Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. G. A. Martini

Nachweis und Analyse zirkulierender Immunkomplexe bei Patienten mit akuter und chronischer Hepatitis und mit Leberzirrhose

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung
des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von
Kurt Gerhard Prokein
aus Rauenzell

Marburg 1977

1978

Fotodruck Symon und Wagner OHG · 3550 Marburg · Biegenstraße 5

Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. G. A. Martini

Nachweis und Analyse zirkulierender Immunkomplexe bei Patienten mit akuter und chronischer Hepatitis und mit Leberzirrhose

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung
des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von
Kurt Gerhard Prokein
aus Rauenzell

Marburg 1977

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 31.3.1978
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. Neurath
Referent: Prof. Dr. Sodomann
Correferent: Prof. Dr. Martini

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Inhalt

1.0.0.0. Einleitung

1.1.0.0. Die Natur von Immunkomplexen
1.1.1.0. Antigene und Haptene
1.1.2.0. Antikörper
1.1.3.0. Immunkomplexe
1.1.3.1. Heidelberger Kurve
1.1.3.2. Präzipitierte und im Gewebe abgelagerte Immunkomplexe

1.2.0.0. Die pathogenetische Bedeutung von Immunkomplexen
1.2.1.0. Serumkrankheit
1.2.2.0. Panarteriitis nodosa
1.2.3.0. Streptokokkennacherkrankungen
1.2.4.0. Kollagenosen

1.3.0.0. Nachweisverfahren für zirkulierende Immunkomplexe
1.3.1.0. Nachweise "kompletter" Immunkomplexe im Serum
1.3.1.1. Nachweis in der Zirkulation
1.3.1.2. Nachweis in Gewebsablagerungen (vergleichsweise)
1.3.2.0. Nachweis isolierter Immunkomplexbestandteile (Antigen-, Antikörper-, Komplementbestandteil)

1.4.0.0. Immunkomplexe bei Lebererkrankungen
1.4.1.0. Leberbeteiligung bei Immunkomplexerkrankungen
1.4.2.0. Beobachtungen über möglicherweise Immunkomplex-bedingte Erscheinungen bei Patienten mit Lebererkrankungen
1.4.3.0. Nachweis von Immunkomplexen bei Patienten mit Lebererkrankungen
1.4.3.1. Nachweis im Lebergewebe
1.4.3.2. Nachweis zirkulierender Immunkomplexe

1.5.0.0. Fragestellung der vorliegenden Arbeit

2.0.0.0. Material und Methoden

2.1.0.0. Patienten und Normalpersonen
2.1.1.0. Patientengruppen: klinische, laborchemische und histologische Parameter
2.1.2.0. Serumgewinnung und -aufbewahrung

2.2.0.0. C_{1q}-Markierung

2.3.0.0. Immunkomplexnachweis mit dem C_{1q}^{*}-Deviationstest nach Sobel et al. (52)

2.3.1.0. Berechnung der C_{1q}^{*}-Deviation

2.3.2.0. Durchführung des C_{1q}^{*}-Deviationstestes

2.3.3.0. Sensibilisierung der Hammelerythrozyten

2.4.0.0. Immunkomplexnachweis mit der Polyäthylenglykoll(PEG)-Fällung nach Nydegger et al. (42)

2.4.1.0. Verwandte PEG-Lösung

2.4.2.0. Durchführung und Berechnung des PEG-Fällungstestes

2.4.3.0. PEG-Sediment-Untersuchungen

2.5.0.0. Immunkomplexnachweis durch säulenchromatographische Trennung in Anlehnung an Rob erts-Thomson et al. (49)

2.5.1.0. Durchführung der Säulenchromatographie

2.5.2.0. Berechnung des "Commencements" und des "monomer/dimer-Verhältnisses" für IgG

2.5.3.0. Untersuchung säulenchromatographischer Fraktionen mit dem C_{1q}^{*}-Deviations- und PEG-Fällungstest

2.6.0.0. Endotoxin-Nachweis mit dem Pyrogent-Test

2.7.0.0. Desoxyribonuklease-Vorbehandlung der Seren

2.8.0.0. HBs-AG und HBs-AK-Nachweise

2.9.0.0. Immunglobulin-Nachweise

3.0.0.0. Ergebnisse

3.1.0.0. Vorversuche

3.1.1.0. Vorversuche zur C_{1q}^{*}-Deviationsmethode

3.1.2.0. Vorversuche zur PEG-Fällungsmethode

3.2.0.0. Untersuchungen über zirkulierende Immunkomplexe bei Normalpersonen und Patienten mit Lebererkrankungen

3.2.1.0. Untersuchungen mit der C_{1q}^{*}-Deviationsmethode

3.2.1.1. Normalpersonen und Patienten ohne Leberkrankheit

3.2.1.2. Patienten mit Lebererkrankungen

3.2.2.0. Untersuchungen mit der PEG-Fällungsmethode

3.2.2.1. Normalpersonen und Patienten ohne Leberkrankheit
3.2.2.2. Patienten mit Lebererkrankungen
3.2.3.0. Ausschluß einer falsch positiven C_{1q}^{*}-Deviation durch Desoxyribonukleinsäure (DNase-Vorbehandlung der untersuchten Seren)
3.2.4.0. Ausschluß falsch positiver PEG-Teste durch Desoxyribonukleinsäure (DNase-Vorbehandlung der untersuchten Seren)
3.2.5.0. Ausschluß falsch positiver C_{1q}^{*}-Deviations- und PEG-Fällungswerte durch Endotoxin (Limuluspolyphemus-Test)
3.2.6.0. Qualitative Analyse der PEG-Präzipitate
3.2.7.0. Untersuchungen mit der säulenchromatographischen Methode
3.2.7.1. Allgemeine Beschreibung der Extinktionsprofile nach säulenchromatographischer Trennung
3.2.7.2. Bestimmung des "Commencements" und des "monomer/dimer-Verhältnisses" für IgG
3.2.7.3. Qualitative Analyse von säulenchromatographischen Fraktionen: Reaktionen im C_{1q}^{*}-Deviations- und PEG-Fällungstest, Gehalt an IgG, IgM und HBs-AG

4.0.0.0. Diskussion

4.1.0.0. Diskussion der Voraussetzungen und der Fragestellung der Arbeit
4.2.0.0. Diskussion der Methoden der Arbeit
4.3.0.0. Diskussion der Ergebnisse der Arbeit
4.3.1.0. Vorversuche
4.3.2.0. Hauptversuche

5.0.0.0. Zusammenfassung

6.0.0.0. Literatur

7.0.0.0. Anhang

Abkürzungen
I. Tabellen
II. Abbildungen

Abkürzungen, die in der vorliegenden Arbeit verwendet werden:

AG	=	Antigen
agg. IgG	=	aggregiertes menschliches Immunglobulin G
AK	=	Antikörper
cpm	=	"counts per minute" = Zahl der durch radioaktiven Zerfall in 1 Minute ausgelösten Szintillationen
C_{1q}	=	Komplementkomponente 1q, die sich bei Komplementaktivierung zuerst an das Substrat anlagert
C_{1q}*	=	^{125}J-markiertes C_{1q}
DNA	=	Desoxyribonukleinsäure
DNase	=	Desoxyribonuklease
"e"-AG	=	früh auftretendes (early) Antigen bei der Virushepatitis B, sog. "e"-Antigen
HBc-AG	=	Hepatitis B-Kern (core)-Antigen
HBs-AG	=	Hepatitis B-Oberflächen (surface)-Antigen
HBs-AK	=	Antikörper gegen Hepatitis B-Oberflächen-Antigen
Ig	=	Immunglobulin
IK	=	Immunkomplex
MG	=	Molekulargewicht
NHS	=	Gemisch (pool) mehrerer normaler Humanseren
PEG	=	Polyäthylenglykol
RES	=	Retikulo-Endotheliales-System
RNA	=	Ribonukleinsäure
SLE	=	systemischer Lupus erythematodes

1.0.0.0. Einleitung

1.1.0.0. Die Natur von Immunkomplexen

Um den Schutz des menschlichen Körpers gegen bestimmte Infektionskrankheiten nach überstandener vorheriger Erkrankung wußten schon die Völker des Altertums. Die Frage nach den grundsätzlichen Vorgängen dieses auch als "erworbene Immunität" bezeichneten Phänomens rückte erst in den letzten zweihundert Jahren mehr in den Mittelpunkt des Interesses, als zuerst Jenner 1798 mit der Impfung des Kuhpockenvirus und später Pasteur (1885) mit abgeschwächten Tollwutviren erfolgreich versuchten, einen Schutz des Körpers gegen Krankheitserreger systematisch aufzubauen. Mit der Entdeckung der Übertragbarkeit der Schutzwirkung gegen Wundstarrkrampfgift mit dem Serum eines mit Tetanustoxin immunisierten Tieres durch Behring und Kitasato 1890 wurde die Bildung von Gegenstoffen (= Antikörpern) als Antwort des Warmblüterorganismus auf eindringende Gifte (= Antigene) allgemein als gesichert angenommen. Über die Art der Wechselwirkung zwischen Antigen und Antikörper war zu diesem Zeitpunkt nichts bekannt. Die zunächst aufgestellte These, daß der Antikörper das Antigen zerstöre, widerlegten 1893 Hans Buchner und danach Calmette, der zeigen konnte, daß eine unschädliche Mischung aus einem Schlangengift und dem entsprechenden Antikörper durch Erhitzen auf 68° C ihre volle Giftwirkung wieder erhielt. Mit den um die Jahrhundertwende gemachten Entdeckungen über die Zusammenballung (= Agglutination) und die Ausfällung von Bakterien aus flüssigen Medien (= Präzipitation) durch die gegen sie gerichteten spezifischen Antikörper (Charrin, Roger 1889, Widal 1896, Kraus 1897) war zwar die chemische Natur der Wechselwirkung zwischen Antigen und Antikörper nicht erhellt, aber deutlich gemacht worden, daß der Antikörper fähig ist, sich mit den Giftmolekülen und -partikeln, gegen die er wirkt, zu größeren Komplexen zu vereinigen. Auf diesen Grundlagen und den Forschungsergebnissen der letzten siebzig Jahre ist die heutige Definition des Begriffes Immunkomplex (IK) aufgebaut:

> Ein Immunkomplex (IK) ist ein durch die Affinität des Antikörpers (AK) zum korrespondierenden Antigen (AG) reversibel

zusammengefügter Antigen-Antikörper-Komplex. Die Bindungsenergie des Komplexes stammt aus Nebenvalenzbindungen.

Bevor auf die Bedeutung des Auftretens von Immunkomplexen im menschlichen Körper eingegangen wird, sollen zunächst Art und Eigenschaften seiner Komponenten, der Antigene und der Antikörper, aufgezeigt werden.

1.1.1.0. Antigene und Haptene

Als AG werden alle Substanzen bezeichnet, die nach Eindringen in den tierischen bzw. menschlichen Organismus dort die Bildung speziell gegen sie gerichteter AK hervorrufen können. Dabei besitzt das AG zwei Eigenschaften: zum einen die Fähigkeit, einen Organismus zur Bildung spezifischer AK zu stimulieren, zum anderen speziell bindungsfähig mit dem induzierten AK zu sein. Stoffe, die nur eine dieser Fähigkeiten haben, nämlich sich an einen gegen sie gerichteten AK spezifisch zu binden, dessen Bildung aber alleine nicht induzieren zu können, nennt man Halbantigene oder Haptene. AG sind hochmolekulare, körperfremde Stoffe (MG $>$ 10.000) mit - chemisch gesehen - heterogener Struktur. So können Proteine, Lipoproteide, Glykoproteide, Polysaccharide und Lipopolysaccharide, z. B. als Bestandteile belebter Mikroorganismen wie Bakterien und Viren, tierischer und pflanzlicher Zellen wie beispielsweise von Leukozytenmembranen und Erythrozytenantigen wirksam sein; aber auch synthetisch hergestellte Stoffe dieser chemischen Strukturen wie Dextrane, Polyvinylpyrolidone, usw. können AG-Eigenschaften besitzen. Haptenwirksamkeit haben vorwiegend niedermolekulare Stoffe, wie z. B. verschiedene Arzneimittel, aber auch pflanzliche und tierische Ribo- und Desoxyribonukleinsäure.

1.1.2.0. Antikörper

In den letzten Jahrzehnten ist das Wissen um Eigenschaften und Struktur der AK ständig gewachsen. Prinzipiell werden heute beim Menschen zwei Abwehrsysteme mit Beteiligung von Substanzen, die AK-Charakter haben, unterschieden: 1. die zelluläre Abwehr und 2. die humorale Abwehr. Die Feinstruktur selbständiger, an der

Lymphozytenoberfläche (Membran) haftender Substanzen, die an den immunologischen Reaktionen vom sogenannten Spättyp beteiligt sind, ist noch weitgehend ungeklärt. Über die frei im Plasma zirkulierenden humoralen AK gibt es dagegen eine Fülle eingehender Befunde. Alle bisher bekannten im menschlichen Plasma zirkulierenden AK sind Eiweißstoffe und bei Trennung der Plasmaproteine in der Fraktion der Globuline zu finden. Sie werden deswegen in ihrer Gesamtheit Immunglobuline (Ig) genannt. Man unterscheidet heute fünf Immunglobulinklassen: IgG, IgA, IgM, IgD, IgE. Produktionsort der Ig aller Klassen sind die Plasmazellen. Diese entwickeln sich aufgrund des antigenen Reizes aus B-Lymphozyten, die ihrerseits pränatal - bei Vögeln in der Bursa fabricii, beim Menschen an einem noch unbekannten Ort (möglicherweise in der Dünndarmsubmukosa) - zum späteren Bildungsvermögen humoraler AK geprägt werden.

Die Klärung der Feinstruktur des Ig-Moleküls verdanken wir Edelmann, Poulik (1961) und Porter (1962). Ihre Arbeiten führten zu dem heute anerkannten Modell, bei dem zwei leichte (MG 20.000) und zwei schwere (MG 52.000) Polypeptidketten mit Hilfe von Disulfidbrücken zu einem gabelförmigen Molekül zusammengefügt sind. Für die spezifische Reaktion des Ig mit seinem AG sind die N-terminalen "Zinken" des Gabelmoleküls verantwortlich, während der "Gabelstiel" u. a. Träger der Komplement-fixierenden Stelle ist. Die einzelnen AK-Klassen unterscheiden sich vorwiegend in der Aminosäurefolge ihrer schweren Ketten, die für jede Ig-Klasse spezifisch ist. Das IgM-Molekül ist ferner aus fünf der oben beschriebenen Gabelmoleküleinheiten zusammengesetzt.

1.1.3.0. Immunkomplexe

Die Reaktion zwischen AG und AK führt zur Bildung von AG-AK-Komplexen, im weiteren Immunkomplexe (IK) genannt. Sie ist im wesentlichen spezifisch, d. h. die Reaktionsorte an der Oberfläche des AG- und der des AK-Moleküls, müssen sich wie Schlüssel und Schloß weitgehend entsprechen. Die zwischen AG und AK geknüpfte chemische Bindung ist keine Hauptvalenzbindung. Der Komplex bezieht seine Bindungsenergie aus van der Waalschen Kräften, Wasser-

stoffbrücken und elektrostatischen Kräften. Die Bindung ist fest, aber nicht irreversibel. Im salzhaltigen, flüssigen Medium findet die IK-Bildung, abhängig von der Spezifität der Reaktionspartner, dem pH-Wert und der Ionenstärke sowie der Temperatur mit unterschiedlicher Affinität statt.

Im nativen tierischen und menschlichen Plasma tritt eine weitere Eigenart des IK hinzu: die Komplementbindung. Als Komplement bezeichnet man eine Gruppe von mindestens neun im frischen tierischen und menschlichen Plasma und Serum vorhandenen Globulinen. AG allein zeigt keine, AK allein eine geringe Affinität zu Komplement. Treten beide zum IK zusammen, so wird die Affinität zum Komplement sehr stark gesteigert. Ist Komplement in einem IK-haltigen Medium vorhanden, wo werden seine neun Komponenten in einer kaskadenartig ablaufenden Reaktion an das sogenannte Fc-Stück des im Komplex gebundenen AK (Fc-Stück = constantes Fragment) fixiert. Das Phänomen der Komplementfixierung wird bei mehreren der unten angegebenen Methoden zum IK-Nachweis ausgenutzt.

Welche sichtbaren Erscheinungen bei der Bildung von IK auftreten, hängt zum einen von der Art des AG, zum anderen vom quantitativen Verhältnis von AG zu AK ab. So treten Agglutination und Lyse vorwiegend dann auf, wenn es sich um korpuskuläre AG, wie z. B. Bakterien oder Erythrozyten handelt (wobei die Lyse komplementabhängig ist), während Protein- und Kohlenhydratantigene vor allem Präzipitationsreaktionen hervorrufen. Erklärt wird das Auftreten dieser sichtbaren IK durch die von Marrack 1934 entwickelte "Netzwerkhypothese". Unter der Annahme, daß das AG polyvalent, der AK mindestens bivalent sei, schlug er eine fortschreitende Vernetzung zweier benachbarter AG durch die AK-Moleküle vor, die schließlich zu großen, nicht mehr löslichen Komplexen führt. Elektronenoptische Forschungen der letzten Jahrzehnte belegten seine Vorstellungen.

1.1.3.1. Heidelberger Kurve

Trotz mindestens bivalenten AKs und polyvalenten AGs treten nicht immer sichtbare Immunreaktionen auf; das zeigten Marrack und

Heidelberger schon 1930, als sie zum ersten Mal exakte Ergebnisse über IK-Bildung bei wechselndem Mengenverhältnis von AG zu AK vorlegten. Sie stellten fest, daß bei Zugabe steigender Mengen AG zu einer gleichbleibenden AK-Menge das Präzipitat zunächst bis zu einem Gipfelpunkt ansteigt, danach aber wieder kontinuierlich abfällt. Im Bereich des ausgiebigsten Präzipitats finden sich fast keine AG und AK mehr im Überstand. Dieser, später von Dean und Webb (zit. nach 26) als optimale Proportion bezeichnete Bereich, liegt bei minimalem AG-Überschuß vor. Bei diesem AG-AK-Verhältnis ist eine optimale Vernetzung möglich, es tritt eine maximale Flokkung ein. Die Erklärung für die Verminderung und das Ausbleiben der Flockungsreaktion im mittleren bis starken AG-Überschuß sowie bei AK-Überschuß ist folgende: bei Überschuß an AK werden die multiplen AK-Bindungsorte auf dem AG schnell mit einzelnen AK-Molekülen abgesättigt, eine Vernetzung bleibt aus und der IK bleibt in Lösung. Bei starkem AG-Überschuß werden beide AG-Bindungsstellen des AK rasch mit AG besetzt, ohne daß eine Vernetzung eintritt, so daß die entsprechenden, aus zwei AG- und einem AK-Molekül bestehenden IK löslich bleiben.

1.1.3.2. Präzipitierte und im Gewebe abgelagerte Immunkomplexe

Das Schicksal der IK in vivo hängt wesentlich vom mengenmäßigen AG-AK-Verhältnis ab. Werden im Organismus AG im Konzentrationsbereich der "optimalen Proportion" durch AK zu großen Strukturen vernetzt, so scheint es für den Körper nicht schwierig zu sein, diese IK rasch mittels Makrophagen und RES-Zellen aus dem zirkulierenden Blut zu phagozytieren und enzymatisch abzubauen. Gleiches gilt für IK, die bei AK-Überschuß entstehen, da es sich hierbei ebenfalls noch um relativ hochmolekulare Komplexe handelt. Bei Überschuß an AG jedoch bilden sich relativ kleine IK, die bedeutend langsamer aus der Zirkulation entfernt werden. Diese IK liegen im Plasma gelöst vor, kreisen als "zirkulierende IK" mit dem Blut, können sich in Gefäßwänden (besonders an Endothelbasalmembranen) ablagern und dadurch zur Ursache verschiedener, z. T. gut beschriebener Erkrankungen werden.

1.2.0.0. Die pathogenetische Bedeutung von Immunkomplexen

Richet und Portier (zit. n. 26) entdeckten 1902 eine Naturerscheinung, die sie Anaphylaxie nannten. Verabreichten sie Hunden intravenös ein Extrakt aus Seeanemonen, so konnten sie nach der Erstinjektion keinerlei pathologische Reaktion beobachten. Wiederholten sie die intravenöse Extraktgabe im Abstand von einigen Wochen, so kamen die Tiere plötzlich unter Entwicklung eines stürmisch ablaufenden Krankheitsbildes mit Schwäche, Blutungen, Erbrechen und Atemschwierigkeiten ad exitum. Ein Jahr darauf berichtete Arthus über das nach ihm benannte Phänomen. Durch wöchentlich wiederholte subkutane Injektion von Fremdserum beim Kaninchen konnte er ab der vierten Injektion mit steigender Injektionszahl Entzündungen zunehmender Intensität bis zur Hautnekrose an der Einstichstelle hervorrufen. Durch diese Entdeckungen wurde man darauf aufmerksam, daß immunologische Vorgänge für den Organismus nicht nur Schutz bilden, sondern auch Erkrankungen hervorrufen können. Ein wesentlicher Grundstein der heutigen Immunpathologie wurde durch die Versuche gelegt, Anaphylaxie und Arthusphänomen in ihren Grundvorgängen zu erkennen und zu deuten. Nach dem gegenwärtigen Stand unterscheidet man vier verschiedene immunpathologische Grundreaktionen, die im deutschen Schrifttum meist als Immunreaktion Typ I bis IV bezeichnet werden.

Immunreaktion Typ I (anaphylaktischer Typ): Beim Erstkontakt mit einem AG reagiert der Körper mit der Bildung von AK der Ig-Klasse IgE. Die IgE-AK besetzen mit ihren Fc-Stücken die Oberfläche von Gewebs- und Blutmastzellen. Bei erneutem AG-Kontakt führt die Komplexbildung zwischen dem AG und zwei benachbarten IgE-AK zur Mastzelldegranulation mit Histaminfreisetzung. Kapillarpermeabilitätserhöhung und Gefäßerweiterung erzeugen dann ein Krankheitsbild, das je nach dem Ausmaß der ablaufenden Reaktion von der Urtikaria bis zum anaphylaktischen Schock reicht. Neben der erwähnten Nesselsucht liegt dieser Reaktionstyp z. B. dem Kreis der Atopien Heufieber, Asthma bronchiale, Neurodermitis konstitutionalis zugrunde.

Immunreaktion Typ II (zytotoxischer Typ): Das AG hat Hapteneigenschaften und besetzt beim ersten Organismuskontakt Oberflächen-

strukturen von Blutzellen. Die Konjugation mit Membranstrukturen läßt Vollantigene entstehen, die eine AK-Bildung induzieren. Bei erneutem AG-Kontakt bilden sich IK auf den besetzten Membranen, und die Zellen werden unter Komplementverbrauch lysiert. Arzneimittelbedingte thrombozytopenische Purpura und Agranulozytosen sind Beispiele dieser pathologischen Immunreaktion.

Immunreaktion Typ III (Arthustyp, Immunkomplextyp): IK bilden sich nicht an Zelloberflächen wie bei Typ I und II, sondern im Plasma. Aufgrund des AG-Überschusses bleiben sie in Lösung und können sich, noch bevor sie vom RES aus der Zirkulation entfernt werden, zusammen mit Komplement in Gefäßwänden ablagern. Dort können polymorphkernige Leukozyten die Komplexe phagozytieren; dabei kann es durch freigesetzt Enzyme zu einer Schädigung der Gefäßwand und zu einer fortschreitenden Entzündungsreaktion kommen. Die AK dieser Komplexe bestehen vornehmlich aus IgG und IgM. Da die Untersuchungen dieser Arbeit sich auf IK dieser Art beziehen, soll weiter unten (1.2.1.0., ff.) auf einige Erkrankungen, die durch sie verursacht werden können, genauer eingegangen werden.

Immunreaktion Typ IV (zellvermittelte Immunität, Überempfindlichkeit vom verzögerten Typ): Zuvor bleibt noch der IV. Typ der Immunreaktion vorzustellen. Führt der Erstkontakt mit dem AG nicht zur Bildung humoraler AK, sondern - wahrscheinlich unter Vermittlung von Makrophagen - zur Sensibilisierung von T-Lymphozyten, so spricht man von einer zellulären Immunität. An den T-Lymphozytenoberflächen bilden sich Membranstrukturen, die funktionell humoralen AK gleichkommen. Bei neuerlichem AG-Kontakt kommt es zur Proliferation der Lymphozyten und Freisetzung von Lymphokinen (biologisch aktive Mediatoren der zellulären Immunität) aus ihnen und nach 24 bis 48 Std. zur Ausbildung eines entzündlichen Zellinfiltrates an der Stelle des AG-Kontaktes, so daß das AG auf unterschiedliche Weise eliminiert werden kann. Immunpathologische Beispiele dieses Typs sind die klassische Tuberkulin-Hautreaktion, Transplantatabstoßungen und chronisch-allergische Kontaktdermatitiden.

1.2.1.0. Serumkrankheit

Pirquet und Schick machten 1905 auf einen Symptomenkomplex aufmerksam, der bei intravenöser Tierserumgabe beim Menschen mit Verzögerung auftrat und als Serumkrankheit bekannt wurde. Etwa sieben Tage nach der Injektion des Fremdserums treten Mattigkeit, Fieber, Lymphknoten- und Milzschwellung auf. Dann kommen generalisierte Urtikaria, Arthralgie, passagere Proteinurie, Granulozytose mit Eosinophilie und Abfall des Serumkomplementspiegels hinzu. Für den Ausbruch der Serumkrankheit machten Pirquet und Schick Giftstoffe verantwortlich, die bei Interaktion von Empfänger-AK und AG des Tierserums entstehen sollten. Mehr als fünfzig Jahre später konnte der genaue Pathomechanismus durch Versuche von Germuth et al. (16, 17) und Dixon et al. (13) aufgeklärt werden. Durch intravenöse Verabreichung großer Mengen gereinigten Fremdeiweißes an Kaninchen wiesen sie nach, daß sich im Stadium der beginnenden AK-Bildung, nach ungefähr einer Woche, also bei noch bestehendem AG-Überschuß, zirkulierende Komplexe aus Kaninchen-AK und Fremd-AG bilden. Unter Komplementfixierung lagern sich die IK an Gefäßwände an, lösen auf die oben beschriebene Weise (Immunreaktion Typ III, siehe unter 1.2.0.0.) eine entzündliche Reaktion mit Erhöhung der Kapillarpermeabilität aus und führen zum klinischen Bild der Serumkrankheit.

1.2.2.0. Panarteriitis nodosa

Während der experimentellen Serumkrankheit kann es bei Kaninchen zu nekrotisierenden Arteriitiden kommen, die denen der Panarteriitis nodosa beim Menschen gleichen. Seit 1940 wurden auch bei Patienten mit Serumkrankheit wiederholt Panarteriitiden beobachtet. Bei dieser auch isoliert auftretenden Erkrankung kommt es meist generalisiert zu fortschreitenden Gefäßwandentzündungen mit chronischem Verlauf und oft baldigem letalen Ausgang. Je nach vorwiegend betroffenem Gefäßgebiet stehen für letzteren Nierenversagen, Herzinfarkt, Magen-Darmblutungen oder zerebrale Hämorrhagien ursächlich im Vordergrund. Unbestritten ist heute folgende Pathogenese: Zirkulierende IK rufen nach Ablagerung - gemeinsam mit Komplement - in der Gefäßwand die fortschreitende nekrotisierende

Entzündung mit nachfolgender Thrombenbildung hervor. Dazu wird allerdings gefordert, daß das verantwortliche AG vor und während der Zeit, in der sich die Schäden entwickeln, fortwährend in der Blutbahn zugegen ist und zugleich AK dagegen gebildet werden. Neuere Befunde (18, 34) weisen auf die Möglichkeit hin, daß auch das Hepatitis B-Oberflächen-Antigen (HBs-AG) zu den AG zählt, die eine Panarteriitis nodosa auslösen können. Die pathogenetische Rolle von HBs-AG und von Ablagerungen entsprechender IK in den Läsionen ist nachgewiesen worden.

1.2.3.0. Streptokokkennacherkrankungen

Schon 1836 machte Bright auf das Krankheitsbild der akuten hämorrhagischen Glomerulonephritis nach einer Scharlacherkrankung aufmerksam. Zehn bis vierzehn Tage nach der Streptokokkeninfektion kommt es neben Allgemeinsymptomen zu Ödemen, Hochdruck und Oligurie mit Eiweiß-, Erythro- und Leukozytenbefund im Urin. Die engen Beziehungen zwischen dieser Scharlachnacherkrankung und der Serumkrankheit betonte Schick schon 1907. Heute steht fest (14, 15), daß die glomeruläre Läsion bei akuter post-Streptokokkenglomerulonephritis durch IK-Ablagerung vorwiegend an der Basalmembran der Glomerulumschlingen, aber auch generalisiert im Kapillarendothel hervorgerufen wird. Eine sekundäre Entzündungsreaktion an den Läsionsorten führt zur klinischen Erkrankung. Neben der Ablagerung zirkulierender IK scheinen auch Autoimmunmechanismen an der Pathogenese, besonders der chronischen Verlaufsform der Glomerulonephritis und z. B. auch des akuten rheumatischen Fiebers beteiligt zu sein. Immunkomplex-bedingte Glomerulonephritiden gehen aber nicht immer auf bakterielle AG und AK dagegen zurück. Auf die Anwesenheit von HBs-AG in den glomerulär abgelagerten IK bei einigen Patienten mit Glomerulonephritis wird in neueren Arbeiten hingewiesen (9, 11); diese IK sind immun fluoreszenzmikroskopisch nachgewiesen worden und enthalten neben HBs-AG vorwiegend IgG, vereinzelt auch andere Ig und Komplement.

1.2.4.0. Kollagenosen

Immunologische Phänomene vom IK-Typ sind auch bei Kollagenosen zu beobachten. Hier seien die am besten untersuchten beim systemischen Lupus erythematodes (SLE) stellvertretend dargestellt. Beim SLE kommt es durch Ablagerung von IK, die aus Desoxyribonukleinsäure (DNA), Ribonukleinsäure (RNA), Histonen und anderen Nukleoproteiden als körpereigenen AG bestehen und den gegen sie gerichteten AK bestehen, in Gefäßwänden, Haut, Endocard und Glomerulumbasalmembranen usw. zu vaskulitischen, dermatitischen, endocarditischen und nephritischen u. a. Erscheinungen. Belegt werden diese pathogenetischen Vorstellungen durch Forschungsarbeiten vor allem aus dem vergangenen Jahrzehnt. Tan et al. wiesen 1966 auf das Vorhandensein von DNA und Anti-DNA-AK im Serum von SLE-Patienten hin (53). Nachdem Krishnan und Kaplan (30) über hohe Konzentrationen von antinukleären AK in den Glomerula bei Lupus nephritis berichteten, konnten Koffler et al. (29) die Zusammensetzung glomerulär abgelagerter IK bei SLE-Patienten aus DNA, RNA, Nukleoproteiden, IgG- und IgM-AK sowie Komplement detailliert nachweisen. Der erste Nachweis zirkulierender IK bei SLE gelang 1972 (21). Nachdem 1968 auf den Zusammenhang zwischen Komplementabfall im Serum SLE-Kranker und klinischer Aktivität der Erkrankung hingewiesen worden war (50) konnten Nydegger et al. 1974 die Auffassung von der Immunpathogenese des SLE durch die Beobachtung der Korrelation von Krankheitsaktivität, Komplementabfall und Anstieg zirkulierender IK untermauern (42).

1.3.0.0. Nachweisverfahren für zirkulierende Immunkomplexe

1.3.1.0. Nachweis "kompletter" Immunkomplexe im Serum

1.3.1.1. Nachweis in der Zirkulation

Eine Vielzahl verschiedener Methoden wurde im Laufe der letzten beiden Jahrzehnte ausgearbeitet mit dem Ziel, zirkulierende IK im Serum nachzuweisen. Die erste Methode machte sich den makromolekularen Charakter der IK zunutze. So wurde versucht, mit Hilfe der analytischen Ultrazentrifugation (31) IK von anderen Serumbestand-

teilen zu trennen. Weitere Methoden, wie die Abtrennung von IK durch Säulenchromatographie (49, 60) und die Fällung aus dem Serum mit Polyäthylenglykol (PEG) (12) beruhen ebenfalls auf dem hohen Molekulargewicht der IK.

Die zu Beginn der sechziger Jahre gemachte Beobachtung, daß die hämolytische Komplementaktivität in der Gelenkflüssigkeit von Patienten mit rheumatoider Arthritis herabgesetzt ist (23) und der 1969 aufgezeigte Zusammenhang zwischen dieser verminderten Komplementaktivität und gleichzeitig auftretenden Gammaglobulinkomplexen (62) gaben den Anstoß, IK-Nachweismethoden zu entwickeln, die sich die Komplementfixierung durch die Komplexe zunutze machten. Neben Untersuchungen, die die herabgesetzt Komplementaktivität im Serum als direktes Maß für die Quantität zirkulierender IK benutzten (39), wurden Verfahren angegeben, zirkulierende IK durch die Koppelung der Komplementkomponente C_{1q} nachzuweisen. Auf diesem Prinzip beruht der Nachweis von IK mit C_{1q} in der Geldiffusion (3) mit Präzipitation, die IK-Bindung an Komplementrezeptoren kultivierter lymphoblastoider Zellen, z. B. der sogenannten Raji-Zellen (54, 55), die Bindung von radioaktiv markiertem C_{1q} (C_{1q}*) an zirkulierende IK mit anschließender Fällung der so markierten IK aus dem Serum durch PEG (42) und die Aufnahmefähigkeit von C_{1q}* durch lösliche IK im Vergleich zur C_{1q}^{*}-Aufnahme durch bekannte komplementbindende Strukturen wie etwa sensibilisierte Hammelerythrozyten (52), die in diesem Zusammenhang wie "Modell-IK" benutzt werden.

Weitere Untersuchungen zum Nachweis zirkulierender IK wurden mit Hilfe der Kryopräzipitatbildung (59), der Bindung an zelluläre Fc-Rezeptoren (27), an monoklonalen Rheumafaktor (63), auf der Basis der Phagozytosehemmung durch IK (44) und mit dem Versuch einer elektronenmikroskopischen Darstellung durchgeführt (4).

1.3.1.2. Nachweis in Gewebsablagerungen

Sowohl frühere (29, 45), als auch neuere Arbeiten (9, 36), die den Nachweis im Gewebe abgelagerter IK zum Ziel haben, benützen neben der Elektronenmikroskopie (z. B. IK-Nachweis in spezifischen glomerulären Basalmembran-"Humps") fast ausschließlich immun-

fluoreszenzoptische Methoden. Dabei werden im Gewebe deponierte IK durch Anlagerung fluoreszeinmarkierter AK gegen AG, gegen AK und gegen Komplementfraktionen sichtbar gemacht und somit lokalisiert.

1.3.2.0. Nachweis isolierter Immunkomplexbestandteile (Antigen-, Antikörper-, Komplementbestandteil)

Von den Untersuchern gewebsabgelagerter IK stammen auch die ersten Versuche, die Einzelbestandteile der dargestellten Komplexe zu analysieren. Die am häufigsten angewandte Methode ist dabei ebenfalls die Immunfluoreszenztechnik. Im Jahr 1967 konnten Koffler, Schur und Kunkel (29) die Zusammensetzung der in den Glomerulumkapillaren von SLE-Patienten mit Nephritis abgelagerten IK mit Hilfe fluoreszenzmarkierter AK am histologischen Schnitt und durch Reaktion von vorgegebenem AG (DNA) mit aus der Niere eluiertem AK klären (siehe auch unter 1.2.4.0.). Mit einfachen Immunpräzipitationsmethoden gelang ihnen der gleiche Nachweis der Zusammensetzung nach Herausspülen der Komplexe aus zerkleinertem Nierengewebe von SLE-Kranken mit saurem Puffer. Einige Untersucher haben, ebenfalls mit der Immunfluoreszenzmethode, die Zusammensetzung gewebsabgelagerter IK bei der chronischen Hepatitis, der Leberzirrhose und bei anderen Lebererkrankungen aus HBs-AG, IgG und IgM aufgeklärt (28, 41). Weitere fanden IK der gleichen Zusammensetzung im Nierengewebe bei einigen Fällen von Glomerulonephritis (9, 11) und in den Gefäßwänden bei mehreren Patienten mit Panarteriitis nodosa (18). Nowoslawski et al. (41) konnten nach Herauslösen des Ig aus den im Lebergewebe fixierten IK mittels Kaliumthiocyanat-Lösung, sogar dessen Spezifität als Anti-HBs-AG-Antikörper (HBs-AK) nachweisen.

Die Charakterisierung zirkulierender IK wurde bisher auf mehrere verschiedene Arten versucht. Neben Rückschlüssen auf die Komplexzusammensetzung aus dem Nachweis koexistierender zirkulierender IK und von nicht komplexgebundenem HBs-AG und HBs-AK (47), wurden präzisere Methoden, wie die säulenchromatographische Trennung löslicher IK und die anschließende Erfassung von HBs-AG, HBs-AK sowie IgG, IgM, IgA und Komplement mittels Immunpräzipitation angegeben (59). In jüngster Zeit wurde ein wei-

teres Verfahren zur Untersuchung des IK-Aufbaues aufgezeigt, das, sowohl bei gewebsabgelagerten, als auch bei gefällten löslichen Komplexen angewendet werden kann (36). Dabei wird die Trennung des AG-AK-Komplexes in Agar-Gel durch Elektrophorese bei 56° C und anschließend der getrennte Nachweis von AG und AK durch Immunpräzipitation vorgeschlagen.

1.4.0.0. Immunkomplexe bei Lebererkrankungen

1.4.1.0. Leberbeteiligung bei Immunkomplex-Erkrankungen

Eine Beteiligung der Leber bei Erkrankungen, die vorwiegend auf immunologischen Reaktionen beruhen, ist seit längerem bekannt. So berichteten Mowrey und Lundberg (40) schon 1954 über charakteristische histologische Befunde einer Hepatitis bei Patienten mit der typischen Veränderungen einer Panarteriitis nodosa. Gocke et al. (18) konnten 1970 bei vier von elf Patienten mit histologisch gesicherter Panarteriitis nodosa eine geringgradige Leberbeteiligung feststellen. Gleichzeitig fanden sie HBs-AG im Serum und konnten sowohl zirkulierende IK, als auch in den arteriitischen Läsionen abgelagerte IK, die HBs-AG enthielten, nachweisen. Weitere Beobachtungen, die einen Zusammenhang zwischen HBs-AG-positiver Hepatitis und Panarteriitis nodosa zeigten, stützten diese Befunde (34, 56).

Über eine "Leberbeteiligung" bei der Glomerulonephritis, bei deren Pathogenese IK ebenfalls eine Rolle spielen, wird von polnischen Autoren berichtet (9): Bei vier von achtzehn Patienten mit verschiedenartiger Glomerulonephritis, die glomeruläre Ablagerungen von HBs-AG-Komplexen hatten, fanden sie Hinweise auf eine Leberschädigung.

Bei der primär biliären Zirrhose, einer vermutlich vorwiegend autoimmunologisch-bedingten Erkrankung, ist fast ausschließlich die Leber betroffen: Durch Autoantikörper kommt es zur Schädigung von Gallengangsepithelien mit Fortschreiten der Läsionen bis hin zur biliären Zirrhose. Inwieweit zirkulierende IK in die Pathogenese mit einbezogen sind, ist bislang nicht geklärt.

Auch beim SLE kann eine Leberbeteiligung beobachtet werden. Die klinische Häufigkeit tritt allerdings gegenüber der Nieren- und Herzbeteiligung zurück. Das Bild der lupoiden Hepatitis wird auch oft als Sonderform der chronisch-aggressiven Hepatitis aufgefaßt und damit vom SLE abgetrennt, obwohl dabei antinukleäre Faktoren wie beim SLE gefunden werden.

1.4.2.0. Beobachtungen über möglicherweise Immunkomplex-bedingte Erscheinungen bei Patienten mit Lebererkrankungen

Die erste Beschreibung einer Koinzidenz von Hepatitis und Symptomen, die denen der Serumkrankheit verwandt sind, wurde schon 1843 von Sir Robert Graves gegeben (19). Er berichtet über einen Patienten mit Hepatitis, Arthralgien und Urtikaria. Seine Beobachtung fand erst Mitte unseres Jahrhunderts wieder Interesse (33, 38). Alpert et al. (1, 2) stellten dann bei Studien von Komplementkomponenten bei Patienten, die neben einer Hepatitis B "serumkrankheitsähnliche Symptome" hatten, erniedrigte Komplementspiegel fest und schlossen auf zirkulierende IK aus HBs-AG, AK und Komplement als deren Ursache. Neuere Arbeiten unterstützen diese Annahme (43, 59).

Neben der Arthritis und der Urtikaria wird bei der akuten Hepatitis in der Literatur auch vom Auftreten von Glomerulonephritiden berichtet. Combes et al. (11) beobachteten einen Patienten, der nach einer Hepatitis B eine membranöse Glomerulonephritis entwikkelte. Immunfluoreszenzoptisch wurden bei ihm glomerulär fixierte Komplexe aus HBs-AG, IgG und Komplementfraktion C3 nachgewiesen. Auch bei Untersuchungen über Leberzirrhosen bei indischen Kindern wurden Hinweise auf nephritische Symptome gefunden (10).

Auf Beobachtungen über das Auftreten hepatitischer Symptome im Rahmen einer Panarteriitis nodosa wurde oben schon hingewiesen. Umgekehrt beschrieben Martini, Strohmeyer und Sodomann (34) u. a. den Verlauf bei drei Patienten mit chronischer, HBs-AG-positiver Hepatitis, die wahrscheinlich auf diesem Boden eine Panarteriitis nodosa entwickelten.

1.4.3.0. Nachweis von Immunkomplexen bei Patienten mit Lebererkrankungen

1.4.3.1. Nachweis im Lebergewebe

Die oben aufgezeigten Zusammenhänge zwischen Lebererkrankungen und Krankheiten, bei denen zirkulierende IK pathogenetisch wirksam sind, machen auf die Möglichkeit einer immunpathologischen Bedeutung von IK bei Leberkrankheiten schlechthin aufmerksam. In den letzten Jahren unternahm man daher zunehmende Anstrengungen, das Auftreten von IK bei Lebererkrankungen zu erkennen und deren pathogenetische Bedeutung herauszuarbeiten. Nowoslawski et al. (41) fanden in Kollektiven von Patienten mit fulminanter Hepatitis, subakuter Hepatitis, chronisch-persistierender Hepatitis, chronisch-aggressiver Hepatitis und Leberzirrhose in jeder Gruppe Patienten mit im Lebergewebe deponierten IK. Diese enthielten HBs-AG, HBs-AK, IgG, IgM und Komplement. Eine weitere Arbeitsgruppe konnte die Befunde bestätigen (28).

1.4.3.2. Nachweis zirkulierender Immunkomplexe

Im Jahre 1969 beobachteten Almeida und Waterson (4) bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung des Serums eines Patienten mit chronisch-aggressiver HBs-AG-positiver Hepatitis und eines Patienten mit fulminanter Hepatitis B AK-besetzte HBs-AG-Partikel. Durch Modellversuche mit dem HBs-AG aus dem Serum eines symptomlosen HBs-AG-Trägers und HBs-AK vom Kaninchen konnten sie das Vorhandensein zirkulierender IK einmal im AG-Überschuß, bei dem Patienten mit chronisch-aggressiver Hepatitis, und einmal im AK-Überschuß, bei dem Patienten mit fulminantem Verlauf der Hepatitis, wahrscheinlich machen. Weitere Studien zeigten, daß das HBs-AG in der Mehrzahl der Seren von Patienten mit Virushepatitis B mit spezifischem AK besetzt ist (37, 51). Bei sechzehn von achtundfünfzig chronischen HBs-AG-Trägern fanden Prince und Trépo zirkulierende IK (47). Die gefundene AK-Menge stand bei ihren Untersuchungen in Korrelation zum Ausmaß des Leberschadens. Nydegger et al. (42) wiesen mit der PEG-Präzipitation C_{1q}^{*}-markierbare IK im Serum bei sieben von vierundzwanzig Patienten mit akuter Hepatitis B und bei

vier von sieben Patienten mit chronisch-persistierender, HBs-AG-positiver Hepatitis nach. Bei achtzehn symptomlosen HBs-AG-Trägern fanden sie dagegen nur einmal zirkulierende IK. Kryopräzipitable IK zeigten Wands et al. (59) bei der Untersuchung des Serums von sechs Patienten mit akuter HBs-AG-positiver Hepatitis, davon drei mit unkompliziertem Verlauf und drei mit urtikariellen und arthritischen Begleiterscheinungen. IgA, C3, C4 und C5 waren jedoch nur bei den Patienten mit "serumkrankheitsähnlichen" Begleiterscheinungen in den Komplexen nachweisbar. In einer weiteren Arbeit, bei der IK mit der Raji-Zell-Methode nachgewiesen wurden, fanden Theophilopoulos et al. (55) bei zwölf von neunzehn Patienten mit akuter Hepatitis B und bei sechs von fünfzehn Patienten mit HBs-AG-negativer, akuter Hepatitis zirkulierende IK. Dem standen acht Probanden mit zirkulierenden IK unter neunundfünfzig symptomlosen HBs-AG-Trägern gegenüber. Die Zusammensetzung der Komplexe wurde bei fünf positiven Seren von Patienten mit akuter Hepatitis B nach Fraktionierung über einen Saccharosegradienten geprüft. HBs-AG, C3 und IgG waren in den Fraktionen, die Komplexe enthielten, nachzuweisen. Dieselben Untersucher machen auf einen deutlichen Abfall des Komplexspiegels, den sie in der Rekonvaleszenz bei der Mehrzahl der Hepatitis-Patienten fanden, aufmerksam. Bei einer prospektiven Untersuchung von vierundsechzig Kranken mit fulminant verlaufender Hepatitis fanden Trépo et al. (57) kürzlich die niedrigste Überlebensrate im Kollektiv der sechzehn Patienten, bei denen gleichzeitig HBs-AG und HBs-AK im Serum nachgewiesen werden konnten.

Alle genannten Studien zeigen, daß beim Verlauf einer Hepatitis die Bildung zirkulierender IK in der Pathogenese eine Rolle spielen kann und möglicherweise den Verlauf direkt beeinflußt.

1.5.0.0. Fragestellung der vorliegenden Arbeit

In der vorliegenden Arbeit sollte deshalb der Versuch unternommen werden, mehrere IK-Nachweismethoden aufzubauen und soweit wie möglich zu standardisieren. Vergleiche der Methoden zum Nachweis der zirkulierenden IK sollten dabei ermöglicht werden. Ursachen

falsch positiver oder falsch negativer Teste sollten erkannt und eliminiert werden. Die Methode sollte bei Normalpersonen und unterschiedlichen Kranken eingesetzt und erprobt werden. Danach sollten Patienten mit unterschiedlichen Lebererkrankungen untersucht werden. Die Häufigkeit zirkulierender IK sollte auf der Basis der Art oder des Stadiums der Lebererkrankung gewertet werden. Soweit wie möglich sollten exemplarisch Verlaufsbeobachtungen an Patienten mit zirkulierenden IK durchgeführt werden. Schließlich sollte eine Charakterisierung der Immunkomplexe von ihrem AG- und AK-Anteil her angestrebt werden. Die Ergebnisse sollten eine Grundlage sein für eine Diskussion über die Bedeutung zirkulierender IK bei der Entstehung und im Verlauf von Lebererkrankungen, insbesondere der akuten und chronischen Hepatitis sowie der Leberzirrhose mit HBs-Antigenämie.

2.0.0.0. Material und Methoden

2.1.0.0. Patienten und Normalpersonen

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurden die Seren von 172 Patienten mit akuten und chronischen Lebererkrankungen auf das Vorkommen zirkulierender IK untersucht. Kontrolluntersuchungen wurden bei einer Gruppe von 15 gesunden Normalpersonen und einem Kollektiv von 11 Patienten mit verschiedenen Erkrankungen, bei denen eine Leberkrankheit anamnestisch, klinisch und laborchemisch ausgeschlossen war, durchgeführt.

2.1.1.0. Patientengruppen: Klinische, laborchemische und histologische Parameter. Serumgewinnung und -aufbewahrung

Die Patienten wurden entsprechend den anamnestischen, klinischen, laborchemischen und histologischen Daten in 16 Gruppen mit verschiedenen Diagnosen geordnet. Dabei wurden die histologischen Kriterien von de Groote et al. (20) zugrunde gelegt. Das Auftreten zirkulierender IK wurde untersucht im Serum von:

15 Patienten mit akuter, HBs-AG-negativer Hepatitis (Daten, s. Tab. 1)
14 Patienten mit akuter, HBs-AG-positiver Hepatitis (Daten, s. Tab. 2)
12 Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-negativer Hepatitis (Daten, s. Tab. 3)
23 Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis (Daten, s. Tab. 4)
5 Patienten mit chronisch-persistierender, HBs-AG-negativer Hepatitis (Daten, s. Tab. 5)
3 Patienten mit chronisch-persistierender, HBs-AG-positiver Hepatitis (Daten, s. Tab. 5)
17 Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-negativer Leberzirrhose (Daten, s. Tab. 6)
24 Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Leberzirrhose (Daten, s. Tab. 7)
21 Patienten mit alkoholtoxischer Leberzirrhose (Daten, s. Tab. 8)
9 Patienten mit kryptogener Leberzirrhose (Daten, s. Tab. 9)
3 Patienten mit Leberzirrhose bei Hämochromatose (Daten, s. Tab. 11)
13 Patienten mit alkoholtoxischer Fettleber bzw. Fettleberhepatitis (Daten, s. Tab. 10)
5 Patienten mit Zustand nach akuter, HBs-AG-negativer Hepatitis (Daten, s. Tab. 11)
4 Patienten mit Zustand nach akuter, HBs-AG-positiver Hepatitis (Daten, s. Tab. 11)
2 symptomlosen HBs-AG-Trägern (Daten, s. Tab. 11)
2 Patienten mit primär-biliärer Leberzirrhose (Daten, s. Tab. 11)

Diagnosen und Labordaten der 11 Kontrollpatienten ohne Lebererkrankungen sind in Tabelle 25 aufgeführt. Beim zweiten Kontrollkollektiv handelte es sich um 15 gesunde Personen, die anamnestisch keine ernsthaften Erkrankungen aufwiesen. Ihre laborchemischen Werte lagen alle im Bereich der Norm.

2.1.2.0. Serumgewinnung und -aufbewahrung

Bei allen Patienten wurde Venenblut unter sterilen Bedingungen abgenommen und in pyrogenfreien Röhrchen hochtourig geschleudert. Das Serum wurde in sterile Plastikgefäße, sogenannten "Eppendorfhütchen" (Fa. Eppendorf, Hamburg) pipettiert und bei -70° C gelagert. Zur Blutgewinnung für den parallel durchgeführten, unten beschriebenen Endotoxinnachweis wurden heparinhaltige Venülen (Behringwerke AG, Marburg) verwendet. Anschließend wurde bei 800 U/min (Christ-Zentrifuge UJIIKSV, Fa. Heraeus-Christ, Osterode; entspr. 142 g) geschleudert, das Serum mit pyrogenfreien Einmalplaspipetten (Pyrex^{R} laboratory glassware, Fa. Byk-Mallinckrodt, Dietzenbach) in sterile, pyrogenfrei-gewaschene Glasröhrchen gefüllt und bei -20° C aufbewahrt.

2.2.0.0. C_{1q}-Markierung

Die Komplementkomponente C_{1q} wurde aus menschlichem Serum nach der Methode von Haupt und Heimburger (22) präpariert und dankenswerterweise von den Behringwerken AG, Marburg, zur Verfügung gestellt. Die Markierung des C_{1q} mit ^{125}J wurde in Anlehnung an Heusser et al. (24) in folgender Weise vorgenommen:

Zu 10 µl $Na^{125}J$ (entspr. 1 mCi, spez. Aktivität 11 - 17 mCi/µg Jod, Fa. Amersham -Buchler, Frankfurt/M.) wurden 100 µl 1 % C_{1q}-Lösung in 0,06 M PBS (pH 7,2) zusammen mit 1 µg Kuhmilch-Laktoperoxidase (Fa. Boehringer, Mannheim) in 7 µl 0,06 M PBS gegeben. Unter ständigem Rühren (Mikromagnetrührer) wurden in jeweils zweiminütigen Abständen 10mal 1 µl 9 nM H_2O_2 (verdünnt mit PBS) zugegeben. Nach weiteren 10 min Katalysewirkung wurde die Reaktion mit 200 µl Lösung aus 1 % NaN_3, 1 % NaJ und 1 % BSA in 0,1 M PBS angehalten. Das Gemisch wurde anschließend über eine mit 4 B-Sepharose (Fa. Pharmacia, Uppsala, Schweden) gefüllte, 0,9 x 30 cm Säule mit einer Flußgeschwindigkeit von 5 ml/Std. getrennt und in 0,25 ml-Portionen gesammelt. Fraktionen, die ^{125}J-markiertes C_{1q} (C_{1q}*) enthielten, wurden "gepoolt" und in Chargen von 200 µl (ca. 0,2 µg C^{*}_{1q}/µl) bei -70° C gelagert.

2.3.0.0. Immunkomplexnachweis mit dem C_{1q}*-Deviationstest nach Sobel et al. (52)

2.3.1.0. Durchführung des C_{1q}*-Deviationstests

Gibt man C_{1q}* zu Probandenserum, dessen IK-gebundenes und freies Komplement vorher durch 30minütiges Erwärmen auf 56° C inaktiviert wurde, so wird C_{1q}* an IK, falls solche im Serum vorhanden sind, gebunden und verbleibt in Lösung. Fügt man anschließend sensibilisierte Hammelerythrozyten zu, so wird in Lösung verbleibendes C_{1q}* durch diese gebunden und es findet sich nach dem Abzentrifugieren im Sediment. Man wählt den Sensibilisierungsgrad der Hammelerythrozyten vorher so, daß etwa 50 % des C_{1q}*, das zu einem Kontrollserum ("gepooltes" menschliches Normalserum = NHS) gegeben wurde, an die abzentrifugierbaren Hammelerythrozyten gebunden wird und die anderen 50 % nach dem Zentrifugieren im Überstand bleiben. Sind IK im Probandenserum vorhanden, so binden diese einen Teil des C_{1q}*. Die anschließend zugegebenen sensibilisierten Hammelerythrozyten können dann nur weniger als 50 % C_{1q}* binden und beim Abschleudern mit ins Sediment nehmen. Die Abweichung des Quotienten von C_{1q}* im Überstand zu C_{1q}* im Sediment, der für das Probandenserum ermittelt wurde, vom entsprechenden Quotienten, der für NHS ermittelt wurde, wird als C_{1q}*-Deviation bezeichnet. Diese Abweichung gibt ein Maß für die C_{1q}*-Bindung durch das dekomplementierte Probandenserum und damit für seinen IK-Gehalt, soweit andere komplementbindende Substanzen ausgeschlossen sind.

Im einzelnen wird in ein kleines Plastikgefäß (sog. "Hütchen" der Fa. Eppendorf, Hamburg) zu 150 µl SVB-Puffer (Zusammensetzung: 9,25 % reinste Saccharose (Fa. Merck, Darmstadt)), 0,025 M Na-5,5-Diäthylbarbital (Fa. Merck, Darmstadt), $1{,}5 \cdot 10^{-4}$ M Ca^{++}, $5{,}0 \cdot 10^{-4}$ M Mg^{++}; pH 7,2 mit HCl, Leitfähigkeit 3 mS/cm mit 0,9 % NaCl-Lösung eingestellt) und 50 µl isotonischer Kochsalzlösung 30 µl Patientenserum gegeben, das nach dem Auftauen 5 min bei 5.400 g (Select-a-Fuge, Fa. Wilke, Hamburg) geschleudert wurde. Das Gemisch wird für 30 min im Wasserbad auf 56° C erwärmt. Nach zehnminütigem Abkühlen gibt man 2 µl C_{1q}*-Lösung (ca. 0,2 µg

C_{1q}*/µl, Präp. s. u. 2.2.0.0.) zu und inkubiert 15 min bei 20° C. Dann werden 200 µl einer Suspension sensibilisierter Hammelerythrozyten (Präp. s. 2.3.1.0.) zugefügt; der Ansatz bleibt 15 min bei 20° C stehen. Anschließend überschichtet man 200 µl des Reaktionsgemisches in einem kleinen Plastikröhrchen (sog. "Beckmannhütchen" der Fa. Beckmann, Frankfurt) über 150 µl 0,05 M Phosphatpuffer mit 40 % Saccharose und zentrifugiert bei 11.000 U/min 5 min in der MSE (Beckmann)-Zentrifuge (6.715 g). Die Trennung von Sediment und Überstand wird nach Abklemmen des Röhrchens oberhalb des Sediments durch Abschneiden des sedimentgefüllten unteren Röhrchenendes erreicht. Dann wird - für Sediment und Überstand getrennt - die Zahl der radioaktiven Zerfälle in einer Minute, hier indirekt ermittelt als "counts per minute" (cpm), im Szintillationszähler bestimmt (Tri-Carb, Liquid Szintillation Spectrometer, Fa. Packard, La Grange, USA).

2.3.2.0. Berechnung der C_{1q}*-Deviation

Die Berechnung der C_{1q}*-Deviation erfolgt folgendermaßen:

Zunächst errechnet man den Prozentsatz der C_{1q}*-Aufnahme durch die sensibilisierten Hammelerythrozyten nach der Formel: (cpm im Sediment) x 100 : (cpm im Sediment - cpm im Überstand). Der errechnete Wert wird zur Bestimmung der C_{1q}*-Deviation in folgende Formel eingesetzt:

$$C_{1q}\text{*-Deviation} = \frac{\%\ C_{1q}\text{*-Aufnahme durch Kontrollserum (NHS)} - \%\ C_{1q}\text{*-Aufnahme durch Probandenserum}}{\%\ C_{1q}\text{*-Aufnahme durch Kontrollserum (NHS)}}$$

Als Normalkontrollen wurden bei jedem Testansatz drei Röhrchen mit NHS mitbestimmt. Positivkontrollen wurden ebenfalls bei jedem Testansatz durchgeführt. Dazu wurde NHS mit Zusatz von 10, 20 bzw. 30 µl einer Lösung von aggregiertem IgG (Herstellung aus NHS angegeben bei Williams and Chase (61); Konzentration: 4 mg/ml; Aggregation durch 20 min Erhitzen auf 63° C) sowie 10 und 20 µl Desoxyribonukleinsäure (DNA)-Lösung (entspr. 25 und 50 µg DNA gelöst in 0,1 M PBS; Na-Salz der DNA, hochpolymerisiert, Fa. Calbiochem, Los Angeles, USA) verwandt.

Mit jedem Patientenserum wurden zwei getrennte C_{1q}*-Deviationsbestimmungen durchgeführt.

2.3.3.0. Sensibilisierung der Hammelerythrozyten

Für den C_{1q}*-Deviationstest werden frisch gewonnene Hammelerythrozyten dreimal in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Anschließend wird eine 10 % (Vol.%) Hammelerythrozytensuspension in GVB-Puffer (Zusammensetzung: 0,111 gr. Gelatine, 8,383 gr. NaCl, 0,3 gr. Na-5,5-Diäthylbarbital, 0,46 gr. 5,5-Diäthylbarbitursäure ad 1.000 ml H_2O, pH = 7,5 einstellen) hergestellt. Zu 3 ml der Suspension werden 3 ml in GVB-Puffer gelöste IgG-Antikörper gegen Hammelerythrozyten vom Kaninchen (Cordis Laboratories, Miami, USA) gegeben. Die Antikörperkonzentration im GVB-Puffer wird in einer Versuchsreihe so eingestellt, daß im Hauptversuch (s. 2.3.0.0.) möglichst genau 50 % des zu NHS gegebenen C_{1q}* an die sensibilisierten Hammelerythrozyten gebunden wird. Das Gemisch wird für 45 min bei 37° C inkubiert, zweimal mit GVB-Puffer gewaschen und anschließend mit GVB-Puffer wieder auf das Ausgangsvolumen von 6 ml aufgefüllt. Pro Serumprobe werden dann 200 ul aus dieser Suspension verwendet (s. 2.3.0.0.).

2.4.0.0. Immunkomplexnachweis mit Polyäthylenglykol (PEG)-Fällung nach Nydegger et al. (42)

2.4.1.0. Verwandte PEG-Lösung

Polyäthylenglykol (PEG) vom MG 6000 (hier: Konzentration 2,551 g PEG auf 90 ml VBS; Fa. Serva, Heidelberg) vermag in 3 %iger Lösung zirkulierende IK aus menschlichem Serum zu fällen. Wird komplementfreies Serum mit C_{1q}* versetzt, so binden zirkulierende IK proportional zu ihrer Menge C_{1q}*. Werden die mit C_{1q}* markierten IK mit PEG-Lösung gefällt, so gibt die radioaktive Zerfallsrate im Sediment, ausgedrückt als prozentualer Anteil der Zerfallsrate der gesamten zugegebenen Aktivität (= 100 % Wert, Feststellung durch Trichloressigsäurefällung), ein Maß für die im Probandenserum vorhandenen zirkulierenden IK.

2.4.2.0. Durchführung und Berechnung des PEG-Fällungstests

Im einzelnen werden zu 0,2 ml Patientenserum (nach Auftauen für 30 min auf 56° C erwärmt, anschließend bei 5.400 g 5 min lang geschleudert (Select-a-Fuge, Fa. Wilke, Hamburg)) in 0,2 ml VBS-Puffer (Herstellung: 83 gr. NaCl, 10,19 gr. Na-5,5-Diäthylbarbital ad 1.500 ml H_2O, dazu 34,58 ml 1 n HCl und 5 ml Lösung von 1,00 M $MgCl_2$ und 0,3 M $CaCl_2$, dann auf 2.000 ml mit H_2O auffüllen; für Gebrauch 5-fach mit H_2O verdünnen (35)) 5 ul C_{1q}*-Lösung (ca. 0,2 ug C_{1q}*/µl) zugegeben und eine Stunde bei 25° C inkubiert. Nach anschließendem einstündigem Verbleiben bei 4° C werden 3 ml PEG-Lösung zugegeben. Nach weiterem zweistündigem Verbleiben bei 4° C wird 20 min lang bei 1.000 g zentrifugiert, der Überstand verworfen und die Zerfallsrate im Sediment im Szintillationszähler gemessen. Das Ergebnis wird als Prozentanteil von präzipitierbarem C_{1q}* berechnet und im weiteren als "PEG-Fällung" bezeichnet. Als 100 %-Wert bestimmt man bei jedem Ansatz die gesamte proteingebundene Radioaktivität (Fällung der zugegebenen C_{1q}*-Menge mit 10 % Trichloressigsäure). Bei jedem Testansatz wurden zwei Negativkontrollen mit NHS ausgeführt. Als Positivkontrollen wurde NHS mit 100 µl Lösung von aggregiertem IgG (Herstellung s. u. 2.3.0.0.) sowie mit 100 µl DNA-Lösung (entspr. 250 µg DNA in 0,1 M PBS; s. u. 2.3.0.0.) versetzt.

Mit jedem Patientenserum wurden zwei getrennte Bestimmungen der PEG-Fällung durchgeführt.

2.4.3.0. PEG-Sediment-Untersuchungen

Bei 49 HBs-AG-positiven Probandenseren wurde das PEG-Sediment in 300 µl 0,1 M PBS aufgenommen und auf seinen Gehalt an IgG, IgM und HBs-AG untersucht. Zur Untersuchung auf IgG und IgM siehe unter 2.9.0.0.. Zur Bestimmung von HBs-AG siehe unter 2.8.00..

2.5.0.0. Immunkomplexnachweis durch säulenchromatographische Trennung in Anlehnung an Roberts-Thomson et al. (49)

2.5.1.0. Durchführung der Säulenchromatographie

Ein ml Probandenserum wurde bei 4° C auf eine 6 B-Sepharose (Fa. Pharmacia, Uppsala, Schweden)-Säule (84 x 2,5 cm) in 0,1 M

PBS mit 0,05 % NaN_3 aufgetragen. Mit einer peristaltischen Pumpe wurde eine Durchflußgeschwindigkeit von 30 ml/Std. erreicht. Es wurden Fraktionen zu 4 ml gesammelt. Die optische Dichte der Fraktionen wurde bei einer Wellenlänge von 280 nm bestimmt. Der IgG- und IgM-Gehalt der Fraktionen wurde anschließend mit Tri-Partigen^R-Agarplatten (Behringwerke AG, Marburg) gemessen (siehe 2.9.0.0.).

2.5.2.0. Berechnung des "Commencements" und des "monomer/dimer-Verhältnisses"für IgG

In Anlehnung an Roberts-Thomson et al. (49) dienten als Index für das Vorhandensein von löslichen IK: 1. das Elutionsvolumen bis zur Fraktion, in der zuerst IgG nachweisbar war (sog. Commencement) und 2. das Verhältnis der IgG-Konzentration an dem Punkt, an dem unvernetztes, monomeres IgG zu erwarten ist, zur IgG-Konzentration an dem Punkt, an dem Proteine mit dem doppelten Molekulargewicht des monomeren IgG, also aggregiertes, sog. dimeres IgG ($(IgG)_2$) zu erwarten ist (sog. monomer/dimer-Verhältnis $\frac{(IgG)}{((IgG)_2)}$). Beide Parameter wurden jeweils im Vergleich zu NHS bestimmt.

2.5.3.0. Untersuchung säulenchromatographischer Fraktionen mit dem C_{1q}*-Deviations- und PEG-Fällungstest

Ferner wurde der Versuch unternommen, zirkulierende IK in den einzelnen Fraktionen des Eluats der Säule mit den oben beschriebenen Methoden nach Sobel et al. (52) und Nydegger et al. (42) (s. u. 2.3.0.0. bzw. 2.4.0.0.) nachzuweisen. Dazu wurden je 6 Fraktionen in den Bereichen a) des vorderen Ausschlusses, b) des Auftretens von IgM, c) des frühen IgG-Auftretens, d) des ansteigenden Bereichs der IgG-Konzentration, e) der höchsten IgG-Konzentration, f) des abfallenden Bereichs der IgG-Konzentration vereinigt und über Ultrafiltrationsmembranen (Diaflo^R, XM50, Amicon Corporation, Lexington, USA) auf ein Volumen von 1 ml eingeengt. Die C_{1q}*-Deviation wurde durch Zugabe von je 100 µl der eingeengten Fraktionen zu dem mit NHS angesetzten Test (s. u. 2.3.0.0.) bestimmt. Um die PEG-Fällung durchzuführen, wurden zum Testansatz mit NHS (s. u. 2.4.0.0.) je 200 µl eingeengtes Eluat zugegeben. Außerdem versuchten wir, HBs-AG in den eingeengten Fraktionen nachzuweisen.

2.6.0.0. Endotoxinnachweis mit dem Pyrogent^{R}-Test

Das Lysat der im Pfeilschwanzkrebs Limulus polyphemus zirkulierenden Amöbozyten kann bei Anwesenheit von Endotoxin gramnegativer Bakterien in flüssigen Medien eine sichtbare Gelierung hervorrufen.

Basierend auf diesem Prinzip prüften wir die Anwesenheit von Endotoxin in Probandenseren durch Anwendung des industriell vertriebenen Pyrogent^{R}-Tests (Fa. Byk-Mallinckrodt, Dietzenbach).

2.7.0.0. Desoxyribonuklease-Vorbehandlung von Seren

Zum Ausschluß von falsch positiven C_{1q}*-Bindungstesten durch eventuell im Serum vorhandene DNA wurden Probandenseren mit Desoxyribonuklease (DNase) vorbehandelt. Vor Ansatz a) der C_{1q}*-Deviations- und b) der PEG-Fällungsteste gaben wir 2 µl DNase-Lösung (100 mg DNase/1 ml PBS; Desoxyribonuklease aus Rinderpankreas, Fa. Serva, Heidelberg) zu 20 µl (bei a)), bzw. zu 200 µl (bei b)) Probandenserum und inkubierten 1 Std. bei 37° C. Diese Behandlung reichte aus, um die C_{1q}*-Fixierung durch mehr als 250 ug DNA in NHS zu verhindern.

2.8.0.0. HBs-AG- und HBs-AK-Nachweise

Der HBs-AG-Nachweis erfolgte parallel mit der Counterelektrophorese (nach Pesendorfer) und dem Hepanostika-Enzymtest der Fa. Organon Teknika, München, der HBs-AK-Nachweis mit der Doppeldiffusionsmethode (nach Ouchterlony) und teilweise mit dem Radioimmunoassay. Es handelte sich dabei um Routineuntersuchungen, die im Routinelabor der Klinik durchgeführt wurden.

2.9.0.0. Immunglobulin-Nachweise

Die Immunglobuline IgG und IgM wiesen wir qualitativ und quantitativ durch Immunpräzipitation mit Fc-Ketten-spezifischen AK vom Kaninchen bzw. Schaf nach. Dazu benutzten wir IgG- und IgM-Tri-Partigen^{R}-Platten (Behringwerke AG, Marburg). Um ausreichende Resultate auch bei niedrigen Konzentrationen zu erreichen, wurden die Löcher in den Agarplatten auf einen Durchmesser von 2 mm erweitert. Eichkurven wurden mit Hilfe von Human-Testserumverdünnungen (Behringwerke AG, Marburg) erstellt. Sie sind in Abb. 12 und 13 wiedergegeben.

3.0.0.0. Ergebnisse

3.1.0.0. Vorversuche

3.1.1.0. Vorversuche zur C_{1q}*-Deviationsmethode

In Vorversuchen wurde die Empfindlichkeit des C_{1q}*-Deviationstests durch Zugabe von DNA-Lösung von aggregiertem menschlichem IgG (agg. IgG) geprüft.

In fünf getrennten Ansätzen wurde zu dem mit NHS ausgeführten Ansatz je 10 µl, 20 µl und 30 µl agg. IgG-Lösung (entspr. 40, 80 und 120 µg IgG in 0,1 M PBS) gegeben. Bei Zugabe von 10 µl agg. IgG-Lösung war die mittlere C_{1q}*-Deviation 26,6 % mit einem Streubereich von 19,6 % bis 34,2 %. Wurden 20 µl agg. IgG-Lösung zugegeben, so ergab sich eine durchschnittliche C_{1q}*-Deviation von 40,1 % (Streubereich 32,8 % bis 48,1 %). Nach Zusatz von 30 µl Lösung von agg. IgG erhielt man einen Durchschnittswert von 59,1 % (Streubereich 55,8 % bis 63,1 %).

Des weiteren wurden bei fünf getrennten Ansätzen je 10 µl, bzw. je 20 µl DNA-Lösung (entspr. 25 µg und 50 µg DNA in 0,1 M PBS) zu NHS zugefügt. Die mittlere C_{1q}*-Deviation bei Zusatz von 10 µl DNA-Lösung betrug 56,3 % (Streubereich der Einzelwerte von 49,8 % bis 65,2 %). Wurden 20 ul DNA-Lösung zugegeben, so erhielt man eine durchschnittliche C_{1q}*-Deviation von 87,1 % (Streubereich von 80,6 % bis 92,2 %).

Wurde das NHS nach Zugabe von 10 µl bzw. 20 µl DNA-Lösung zusätzlich mit 2 µl DNase-Lösung vorbehandelt, so erhielt man die gleiche C_{1q}*-Deviation wie durch NHS alleine, sie war also nicht mehr erhöht.

3.1.2.0. Vorversuche zur PEG-Fällungsmethode

Die Empfindlichkeit der PEG-Fällungsmethode wurde ebenfalls mit agg. IgG- und DNA-Lösung geprüft. In fünf getrennten Ansätzen mit NHS wurden je 50 µl, 100 µl und 200 µl agg. IgG-Lösung (0,4 mg IgG/ml 0,1 M PBS) und DNA-Lösung (2,5 mg DNA/ml 0,1 M PBS) zugesetzt.

Bei Zugabe von 50 µl agg. IgG-Lösung erhielt man eine mittlere

PEG-Fällung von 16,2 % (Streubereich 14,1 % bis 19,0 %). Gab man 100 µl Lösung von agg. IgG zu, so betrug die durchschnittliche Fällungsrate 26,4 % (20,8 % bis 32,7 % Streubereich). Wurden 200 µl agg. IgG-Lösung zugesetzt, so war der Mittelwert der PEG-Fällung 37,2 % (32,2 % bis 41,5 % Streubereich).

Bei Ausführung des Ansatzes mit 50 µl DNA-Lösung erhielt man eine mittlere PEG-Fällung von 19,2 % mit einer maximalen Abweichung von 2,3 % nach oben und 6 % nach unten. Gab man 100 µl DNA-Lösung dazu, so erhielt man eine durchschnittliche PEG-Fällung von 27, 1 % (Streubreite 22,8 % bis 31,3 %). Wenn 200 µl DNA zugesetzt wurden, so war die mittlere Fällungsrate 32,5 %. Der niedrigste Einzelwert betrug dabei 30,1 %, der höchste 39,7 %.

Wurde der Ansatz von NHS unter Zusatz von 50 µl, 100 µl bzw. 200 µl DNA-Lösung mit 2 µl DNase-Lösung vorbehandelt, so erhielt man gleiche Werte wie für NHS allein, sie waren also nicht mehr erhöht.

3.2.0.0. Untersuchungen über zirkulierende Immunkomplexe bei Normalpersonen und Patienten mit Lebererkrankungen

3.2.1.0. Untersuchungen mit der C_{1q}*-Deviationsmethode

3.2.1.1. Normalpersonen und Patienten ohne Leberkrankheit

Bei der Untersuchung der C_{1q}*-Deviation im Serum von 15 gesunden Personen fand sich für das Gesamtkollektiv ein Mittelwert von 10,3 % (s. Abb. 1, links). Ein Proband dieser Gruppe hatte mit 18,5 % den höchsten Einzelwert, die niedrigste Ablenkung war 0 %. Daneben wurde bei 11 Patienten, bei denen eine Lebererkrankung ausgeschlossen worden war, eine mittlere C_{1q}*-Deviation von 8,5 % (s. Abb. 2, links) mit einer Streuung der Werte von 0 % bis 17 % ermittelt. Die Diagnosen, laborchemischen Daten und die Mittelwerte der Einzelbestimmungen der C_{1q}*-Deviation (arithmetisches Mittel aus zwei getrennten Bestimmungen im selben Serum) jedes Patienten finden sich in Tab. 25.

3.2.1.2. Patienten mit Lebererkrankungen

Die mittlere C_{1q}*-Deviation lag bei den Patienten mit akuter,

HBs-AG-negativer Hepatitis mit 11 % sehr dicht beim Durchschnittswert der Patienten mit akuter, HBs-AG-positiver Hepatitis (11,6 %). Beide wichen nur minimal vom Mittelwert der gesunden Kontrollpersonen ab (10,3 %). Die Gruppe der Patienten, die kürzlich von einer akuten, HBs-AG-negativen Hepatitis genesen waren (mittlere C_{1q}*-Deviation: 4,3 %) und die symptomlosen HBs-AG-Träger (mittlere C_{1q}*-Deviation: 4,3 %) zeigten sogar niedrigere Werte für die C_{1q}*-Deviation als die Gesunden (s. Abb. 1), während der Durchschnittswert bei den Patienten, die kürzlich eine akute, HBs-AG-positive Hepatitis durchgemacht hatten, mit 16,8 % deutlich, aber nicht signifikant höher lag. Wird das Verhalten bei symptomlosen HBs-AG-Trägern und Patienten im Zustand nach einer abgeheilten akuten, HBs-AG-negativen Hepatitis nicht gegenüber Gesunden, sondern gegenüber der Patientenkontrollgruppe ohne Lebererkrankung betrachtet, so ergibt sich keine signifikante Erniedrigung (s. Abb. 2). Die hier angestellten Vergleiche gelten für die Mittelwerte und Streuungen der einzelnen Kollektive, wobei zunächst unberücksichtigt bleibt, daß diese in sich nicht einheitlich sein müssen, was später diskutiert wird.

Bei den Patienten mit chronischen Hepatitiden war die mittlere C_{1q}*-Deviation nur bei den Kranken mit chronisch-persistierender, HBs-AG-positiver Hepatitis mit 5,8 % niedriger als in den beiden Kontrollgruppen. Die Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-negativer Hepatitis (mittlere C_{1q}*-Deviation: 21,6 %), chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis (mittlere C_{1q}*-Deviation: 15,5 %) und chronisch-persistierender, HBs-AG-negativer Hepatitis (mittlere C_{1q}*-Deviation: 17,4 %) hatten im Durchschnitt deutlich höhere Werte als die Patienten mit akuter Leberentzündung (11 %/ 11,6 %). Eine signifikante Erhöhung der durchschnittlichen C_{1q}*-Deviationswerte gegenüber Gesunden ergab sich allerdings nicht. Gegenüber der Patientenkontrollgruppe (mittlere C_{1q}*-Deviation: 8,5 %) war aber der Mittelwert bei den Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-negativer Hepatitis mit 21,6 % signifikant höher.

Unter den Patienten mit Leberzirrhose zeigten die mit posthepatitischer, HBs-AG-negativer Zirrhose mit 21,8 % für die durchschnittliche C_{1q}*-Deviation einen ähnlichen Wert wie die mit chro-

nisch-aggressiver, HBs-AG-negativer Hepatitis. Auch hierbei war der Wert gegenüber Gesunden nicht signifikant, gegenüber Kontrollpatienten ohne Leberkrankheit aber signifikant erhöht. Im Vergleich zu beiden Kontrollkollektiven signifikant erhöht zeigte sich die mittlere C_{1q}*-Deviation bei den Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Leberzirrhose (mittlere C_{1q}*-Deviation: 24,9 %) und kryptogener Leberzirrhose (mittlere C_{1q}*-Deviation: 28,1 %). Der höchste Mittelwert für die C_{1q}*-Ablenkung wurde mit 37,0 % im Serum von Patienten mit primär-biliärer Leberzirrhose ermittelt. Patienten mit alkoholtoxischer Leberzirrhose zeigten mit 11 % für die durchschnittliche C_{1q}*-Deviation einen, dem gesunden Kontrollkollektiv entsprechenden Wert. Die Fälle mit Leberzirrhose bei Hämochromatose hatten eine mittlere C_{1q}*-Deviation, die sogar niedriger als bei Gesunden lag: 3,5 %. Etwas höher, aber immer noch unter dem Durchschnittswert des Patientenkollektivs (8,5 %) lag der Wert bei Patienten mit einer Fettleber bzw. Fettleberhepatitis (6,2 %). Die Ergebnisse sind graphisch dargestellt und in bezug auf die gesunde Kontrollgruppe in Abb. 1, in bezug auf die Patientenkontrollgruppe in Abb. 2 wiedergegeben.

Aus der Graphik sind die großen Standardabweichungen für fast alle Patientengruppen ersichtlich. Das läßt den Schluß zu, daß die Patientengruppen nicht einheitlich sind. Da es in jedem Kollektiv einen Anteil von Patienten mit signifikant erhöhter C_{1q}*-Deviation und einen Anteil mit normaler Ablenkung gibt, kann angenommen werden, daß in den einzelnen Gruppen Patienten mit zirkulierenden IK neben solchen ohne IK vorhanden sind. Außerdem muß schon hier angemerkt werden, daß die absoluten C_{1q}*-Deviationswerte in den einzelnen Bestimmungsansätzen aus methodischen Gründen schwankten (vgl. Diskussion), so daß sie kein absolut korrektes Bild der IK-Reaktionen einer untersuchten Patientengruppe abgeben. Vielmehr war es notwendig, innerhalb eines jeden Ansatzes aufgrund der jeweils mitgeführten Normalwerte den Bereich der signifikant positiven Reaktion ($x_n > \bar{x} + 2s$) festzulegen und danach die Ergebnisse für einzelnen Patienten zu beurteilen. Daher wurde, wie aus den Tabellen 12, 13 und 14 hervorgeht, eine Bewertung im Einzelfall vorgenommen: als signifikant positiv wurden die Fälle gewertet, bei

denen die C_{1q}*-Deviation größer als $\bar{x} + 2s$ des gesunden Kontrollkollektivs, d. h. größer als 24,2 % war.

Bei den 15 Patienten mit akuter, HBs-AG-negativer Hepatitis sowie den 5 Patienten im Zustand nach akuter, HBs-Ag-negativer Hepatitis fand sich in keinem Fall eine signifikant positive C_{1q}*-Deviation. Im Falle der akuten, HBs-AG-positiven Hepatitis hatte 1 von 14 untersuchten Patienten einen signifikant erhöhten Deviationswert, was einem Prozentsatz von 7,1 % des Kollektivs entspricht. 50 % der Patienten, die kürzlich eine akute, HBs-AG-positive Hepatitis durchgemacht hatten, zeigten eine signifikant positive C_{1q}*-Deviation (2 von 4 untersuchten Patienten). Bei den 2 untersuchten symptomlosen HBs-AG-Trägern fand sich dagegen keine positive Ablenkung (s. Tab. 12).

4 von 12 untersuchten Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-negativer Hepatitis (entspr. 33,3 %) und 3 von 22 Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis (entspr. 13,6 %) zeigten eine signifikant erhöhte C_{1q}*-Deviation. Bei 5 untersuchten Patienten mit chronisch-persistierender, HBs-AG-negativer Hepatitis zeigte 1 Kranker (entspr. 20 %) eine signifikante Ablenkung. Unter den 3 Fällen mit chronisch-persistierender, HBs-AG-positiver Hepatitis fand sich dagegen kein Patient mit einem signifikant erhöhten Wert (s. Tab. 13).

Die Ergebnisse bei den Patienten mit Leberzirrhose und Fettleber bzw. Fettleberhepatitis sind in Tab. 14 zusammengefaßt. Von 17 Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-negativer Leberzirrhose hatten 5 Patienten eine signifikant positive C_{1q}*-Ablenkung. Das entspricht 29,4 % der Gruppe. Mit 54,1 % positiver Fälle lag der Anteil bei den Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Leberzirrhose (13 von 24 Patienten) fast doppelt so hoch wie im Kollektiv der Patienten mit posthepatitischer Leberzirrhose, aber ohne HBs-AG im Serum. Bei 4 von 9 Patienten (entspr. 44,4 %) mit kryptogener Leberzirrhose zeigte sich ein signifikant positiver Deviationswert. Die beiden Patienten mit primär-biliärer Leberzirrhose, die untersucht werden konnten, hatten beide signifikant erhöhte Werte (entspr. 100 %). Bei den Kranken mit alkoholtoxischer Leberzirrhose, mit Leberzirrhose bei Hämochromatose und mit

Fettleber bzw. Fettleberhepatitis war der Anteil mit positiver C_{1q}*-Deviation deutlich geringer: 4 von 21 Patienten mit alkoholtoxischer Leberzirrhose (entspr. 19 %), keiner der 3 Patienten mit Leberzirrhose bei Hämochromatose und nur 1 von 13 Patienten mit Fettleber bzw. Fettleberhepatitis (entspr. 7,6 %) hatten signifikant erhöhte Werte.

3.2.2.0. Untersuchungen mit der PEG-Fällungsmethode

3.2.2.1. Normalpersonen und Patienten ohne Leberkrankheit

Bei der Bestimmung der PEG-Fällung im Serum von 15 gesunden Personen ergab sich ein Durchschnittswert von 6,7 % für die Gesamtgruppe (s. Abb. 3, links). Im Einzelfall wurden 12 % als höchste und 2,5 % als niedrigte Fällungsrate ermittelt. Mit 8,7 % lag der Durchschnittswert bei den 11 Patienten ohne Lebererkrankung (s. Abb. 4, links), die als Patientenkontrollgruppe dienten, etwas höher. Der Streubereich von 6,5 % als niedrigsten und 10,8 % als höchsten Einzelwert war dagegen kleiner. Tabelle 25 faßt die Diagnosen und laborchemischen Daten sowie die Mittelwerte aus den Bestimmung mit der PEG-Fällungsmethode (arithmetisches Mittel aus zwei getrennten Bestimmungen im selben Serum) für jeden einzelnen Kranken der Patientenkontrollgruppe zusammen.

3.2.2.2. Patienten mit Lebererkrankungen

Die durchschnittlichen PEG-Fällungswerte waren bei den Patienten mit akuter, HBs-AG-negativer Hepatitis (10,8 %), akuter HBs-AG-positiver Hepatitis (9,1 %) und beim Zustand nach akuter, HBs-AG-positiver Hepatitis (8,7 %) etwa gleich hoch. Sie lagen nur wenig höher als der Mittelwert in der gesunden Kontrollgruppe (6,7 %) Ein sogar etwas niedrigerer Fällungswert zeigte sich mit 6,6 % im Kollektiv der Patienten, die eine akute, HBs-AG-negative Hepatitis kürzlich überstanden hatten und bei symptomlosen HBs-AG-Trägern mit 6,1 %. Bei keiner der bisher genannten Gruppen bestand eine signifikante Erhöhung bzw. Verminderung weder gegenüber der gesunden noch gegenüber der Patientenkontrollgruppe.

Die mittlere PEG-Fällungsrate unterschied sich mit 10,1 % bei den Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-negativer Hepatitis,

mit 9,4 % bei chronisch-persistierender, HBs-AG-negativer und mit 10,0 % bei chronisch-persistierender, HBs-AG-positiver Hepatitis kaum von den bisher beschriebenen Kollektiven. Sie lag nur unwesentlich über dem Mittelwert bei Gesunden und bei Kontrollpatienten ohne Lebererkrankung. Signifikant höher als in den Kontrollgruppen war dagegen der durchschnittliche PEG-Fällungswert bei Kranken mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis. Er betrug 22,3 %.

Niedriger, gegenüber den Kontrollkollektiven aber noch signifikant erhöht, war der Mittelwert bei den Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-negativer Leberzirrhose (16,1 %). War bei posthepatitischer Leberzirrhose HBs-AG im Serum nachzuweisen, so lag die mittlere PEG-Fällungsrate mehr als doppelt so hoch (37,2 %) und unterschied sich hochgradig signifikant. Auch bei Patienten mit kryptogener Leberzirrhose fand sich mit 24,1 % eine signifikant höhere PEG-Fällungsrate als bei Gesunden und Patienten ohne Lebererkrankung. Wesentlich niedriger, aber noch signifikant höher als in der Kontrollgruppe der Gesunden war der Durchschnittswert bei Patienten mit alkoholischer Leberzirrhose (11,8 %). Betrachtet man diese Gruppe jedoch gegenüber den Kontrollpatienten, so war der Unterschied nicht mehr signifikant. Im Falle der Leberzirrhose bei Hämochromatose ergab sich mit 7,7 % ein Durchschnittswert, der sich nur wenig von den Werten der Kontrollgruppen unterschied. Noch niedriger lag die durchschnittliche PEG-Fällungsrate bei den Patienten mit Fettleber bzw. Fettleberhepatitis (5,4 %). Im Vergleich zur Patientenkontrollgruppe war dieser Wert sogar signifikant niedriger. Die eben beschriebenen Ergebnisse finden sich in Abb. 3 im Vergleich zur gesunden, in Abb. 4 im Vergleich zur kranken, aber von immunologischen- und Lebererkrankungen freien Kontrollgruppe graphisch wiedergegeben.

In den Abbildungen werden für die einzelnen Patientengruppen große Streubereiche deutlich. Wie schon oben bei der Besprechung der Ergebnisse mit der C_{1q}*-Deviationsmethode angeführt, wird dadurch auf die Heterogenität innerhalb einer Patientengruppe hingewiesen. Es muß angenommen werden, daß in den unterschiedlichen Gruppen Patienten mit und ohne zirkulierende IK im Serum vorkommen, so daß eine Bewertung der Einzelfälle nötig ist, zumal auch hier wieder

methodisch bedingte Schwankungen die absolute Höhe der Einzelwerte in den einzelnen Bestimmungen beeinflußten. Als signifikant positive PEG-Fällung wird im weiteren ein Wert > $\bar{x} + 2s$ des gesunden Kontrollkollektivs bezeichnet, d. h. größer als 12,3 %.

Bei 5 von 15 Patienten mit akuter, HBs-AG-negativer Hepatitis (entspr. 33,3 %) und bei 3 von 14 Patienten mit akuter, HBs-AG-positiver Hepatitis (entspr. 21,4 %) wurden signifikant erhöhte PEG-Fällungsraten gefunden. Mit 20 % und 25 % waren ähnliche Anteile bei den Patienten mit kürzlich überstandener akuter, HBs-AG-negativer (1 Patient von 5) und überstandener akuter, HBs-AG-positiver Hepatitis (1 Patient von 4) positiv. Die beiden untersuchten symptomlosen HBs-AG-Träger hatten keine erhöhten PEG-Fällungswerte. Diese Ergebnisse sind in Tab. 12 zusammengefaßt.

Tabelle 13 zeigt das Verhalten bei Patienten mit chronischer Hepatitis. Von 12 untersuchten Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-negativer, 5 Patienten mit chronisch-persistierender, HBs-AG-negativer sowie 3 Patienten mit chronisch-persistierender, HBs-AG-positiver Hepatitis war je nur ein Patient signifikant positiv. Dies entspricht einem Anteil von 8,3 % bei chronisch-aggressiver, HBs-AG-negativer, von 20 % bei chronisch-persistierender, HBs-AG-negativer und von 33,3 % bei chronisch-persistierender, HBs-AG-positiver Hepatitis. Eine signifikant erhöhte PEG-Fällung wurde dagegen im Serum von 10 aus 23 Patienten mit chronisch-aggressiver HBs-AG-positiver Hepatitis beobachtet, was einem Anteil von 43,4 % entspricht.

In Tabelle 14 sind die Ergebnisse bei Leberzirrhose- und Fettleberkranken aufgeführt. Bei 17 untersuchten Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-negativer Leberzirrhose hatten 9 (entspr. 52,9 %) signifikant erhöhte PEG-Werte. Mit 70,8 % lag der Anteil von Patienten mit signifikant erhöhter PEG-Fällungsrate in der Gruppe der Kranken mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Leberzirrhose noch höher. 17 von 24 untersuchten Seren wiesen eine signifikant erhöhte PEG-Fällung auf. Während 6 von 9 Patienten mit kryptogener Leberzirrhose (entspr. 66,6 %) signifikant erhöhte PEG-Fällungswerte zeigten, war bei den beiden untersuchten Patienten mit primär-biliärer Leberzirrhose eine signifikante Erhöhung

der PEG-Fällungswerte zu beobachten (100 %). Wesentlich niedriger lag der Anteil der positiven Ergebnisse in der Gruppe von Patienten mit alkoholtoxischer Leberzirrhose: von den 21 Patienten mit alkoholtoxischer Leberzirrhose zeigten nur 4 (entspr. 19 %) signifikant positive Werte. Bei keinem der 13 untersuchten Kranken mit Fettleber bzw. Fettleberhepatitis und ebenfalls keinem der 3 Patienten mit Leberzirrhose bei Hämochromatose kamen signifikant erhöhte PEG-Werte vor.

3.2.3.0. Ausschluß einer falsch positiven C_{1q}*-Deviation durch Desoxyribonukleinsäure (DNase-Vorbehandlung der untersuchten Seren)

Um eine mögliche Verfälschung der C_{1q}*-Deviation durch eventuell im Patientenserum vorhandene DNA auszuschließen, wurde bei 26 der Patienten mit Lebererkrankungen aus verschiedenen Gruppen zusätzlich die C_{1q}*-Deviation nach Vorbehandlung der Seren mit DNase-Lösung geprüft. Wie Tabelle 15 zeigt, wurde die C_{1q}*-Deviation in keinem Fall durch Vorbehandlung mit DNase deutlich niedriger. Die Ablenkungswerte nach enzymatischer DNA-Spaltung schwankten in den einzelnen Seren zwischen 6 % weniger und 7 % mehr im Vergleich zum nicht mit DNase vorinkubierten Serum.

3.2.4.0. Ausschluß falsch positiver PEG-Teste durch Desoxyribonukleinsäure (DNase-Vorbehandlung der untersuchten Seren)

Zehn Seren von Patienten mit verschiedenen Lebererkrankungen, mit denen erhöhte PEG-Fällungswerte ermittelt worden waren, wurden nach Vorbehandlung mit DNase erneut untersucht, um falsch positive PEG-Werte durch eventuell im Patientenserum vorhandene DNA auszuschließen. Deutlich erniedrigte Fällungsraten fanden sich nach DNA-Spaltung nur in zwei Fällen (s. Tab. 16). Bei dem Patienten G., K. mit kryptogener Leberzirrhose war die PEG-Fällung nach Behandlung des Serums mit DNase von vorher 84,3 % auf einen Wert von 16,8 % gefallen. Diese 16,8 % sind aber immer noch als signifikant positiv gegenüber Normalpersonen zu betrachten. Beim Patienten M., M. mit alkoholtoxischer Leberzirrhose fand sich nach DNase-Vorbehandlung des Serums eine Erniedrigung der PEG-Fällung von 31,3 % auf 9 %. Der letzte Werte ist nicht mehr signifikant posi-

tiv. Neben diesen deutlichen Verminderungen durch DNase-Vorbehandlung fand sich aber selten auch eine Erhöhung der PEG-Fällungsrate nach DNase-Vorbehandlung des Serums (s. Tab. 16, H., G.).

3.2.5.0. Ausschluß falsch positiver C_{1q}*-Deviations- und PEG-Fällungswerte durch Endotoxin (Limulus polyphemus-Test)

Da neben DNA auch im Serum vorhandenes Endotoxin gram-negativer Bakterien fähig ist, C_{1q}* zu binden und somit die Ergebnisse des C_{1q}*-Deviations- und des PEG-Fällungstests zu verfälschen, wurde im Serum von 17 Patienten mit Lebererkrankungen ein Endotoxin-Nachweisverfahren (Limulus polyphemus-Test: Pyrogent^{R}, Fa. Byk-Mallinckrodt, s. Material und Methoden) durchgeführt. Die Ergebnisse, die Mittelwerte von PEG-Fällung und C_{1q}*-Deviation sowie Diagnosen der Patienten sind in Tab. 21 verzeichnet. Bei 2 von 3 untersuchten Patienten mit kryptogener Leberzirrhose fand sich Endotoxin im Serum. Bei den beiden waren die PEG-Fällung, bei einem auch die C_{1q}*-Deviation signifikant erhöht. In den 15 anderen Fällen ließ sich mit dem Pyrogent^{R}-Test kein Endotoxin im Serum nachweisen.

3.2.6.0. Qualitative Analyse der durch PEG gefällten Substanzen

Um Aussagen über die qualitative und quantitative Zusammensetzung des mittels PEG gefällten Sediments machen zu können, wurde das Präzipitat nach Ausfällung durch PEG aus dem Serum von 8 Patienten mit akuter, HBs-AG-positiver Hepatitis, 3 Patienten mit chronisch-persistierender, HBs-AG-positiver Hepatitis, 18 Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis und 20 Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Leberzirrhose auf den Gehalt an IgG, IgM und HBs-AG untersucht. Bei etwa 50 % dieser Patienten waren mit der PEG-Fällung gegenüber der Norm signifikant erhöhte Mengen von C_{1q}* in das Sediment überführt und damit wahrscheinlich an IK gebunden worden.

Bei 7 von 8 Patienten mit akuter, HBs-AG-positiver Hepatitis fand sich sowohl IgG als auch HBs-AG im Sediment. In einem Fall konnte weder IgG noch HBs-AG nachgewiesen werden (s. Tab. 17). IgM war in keinem der 8 untersuchten Fälle nachweisbar. Wie die Abb. 5 zeigt, bestand bei dieser Patientengruppe keine deutliche direkt

proportionale Abhängigkeit des IgG-Gehaltes vom Ausmaß der PEG-Fällung im Einzelserum.

Bei den 3 untersuchten Patienten mit chronisch-persistierender, HBs-AG-positiver Hepatitis wurde zweimal IgG und HBs-AG im PEG-Sediment gefunden. Beim dritten Kranken fanden sich weder IgG noch HBs-AG im PEG-gefällten Bodensatz des Serums. IgM wurde ebenfalls in keinem Fall nachgewiesen (s. Tab. 18).

Tabelle 19 zeigt die Ergebnisse bei den 18 Kranken mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis. Neun Patienten hatten IgG und HBs-AG im ausgefällten Sediment. Bei 5 Patienten fand sich zwar IgG, aber kein HBs-AG. Ein Patient hatte nur HBs-AG, aber kein Immunglobulin im Bodensatz. Die restlichen 3 Patienten zeigten weder HBs-AG noch IgG im Sediment. Wie schon bei den Patienten mit akuter und chronisch-persistierender Hepatitis war auch bei den Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis in keinem Fall IgM im Bodensatz. Abb. 6 zeigt, daß bei diesen Patienten keine direkt proportionale Abhängigkeit des Sedimentgehaltes an IgG von der PEG-Fällungsrate im Einzelserum bestand.

Die Ergebnisse der Sedimentuntersuchung in der Gruppe mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Leberzirrhose faßt die Tab. 20 zusammen. In 6 der 20 untersuchten Fälle konnten sowohl IgG, als auch IgM und HBs-AG im Sediment nachgewiesen werden. Bei 7 Patienten fanden sich nur IgG und HBs-AG im Bodensatz, bei 2 Patienten nur die beiden Immunglobuline, aber kein HBs-AG. In je einem Fall wurden IgG allein bzw. HBs-AG allein nachgewiesen. Bei 3 der 20 untersuchten Seren waren weder Immunglobuline noch HBs-AG vorhanden. In Abb. 7 erkennt man, daß im Gegensatz zum Verhalten bei den vorher besprochenen Patientengruppen bei den Kranken mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Leberzirrhose eine relativ deutliche, direkt proportionale Abhängigkeit des IgG-Gehaltes des Sediments vom Ausmaß der PEG-Fällung (in %) bestand. Abb. 7 zeigt die Abhängigkeit der IgM-Menge im Bodensatz von der PEG-Fällungsrate. Man sieht, daß erst bei Fällungswerten über 50 % IgM nachweisbar war. Eine deutliche Proportionalität von IgM-Gehalt und PEG-Fällung ist aber nicht erkennbar.

Die Beziehung zwischen der PEG-Fällungsrate im Einzelserum und

dem HBs-AG-Nachweis im Sediment bei den vier untersuchten Patientengruppen (akute, chronisch-persistierende, chronisch-aggressive Hepatitis und posthepatitische Leberzirrhose - jeweils mit HBs-Antigenämie) wird in Abb. 9 deutlich. Mit zwei Ausnahmen hatten alle Seren, deren gefällter Bodensatz HBs-AG-negativ war, einen PEG-Fällungswert unter 15 % (allerdings fanden sich in diesem Bereich ebensoviel HBs-AG-positive Sedimente). Bei den oben erwähnten Ausnahmen handelte es sich um zwei Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Leberzirrhose, die eine sehr hohe Fällungsrate aufwiesen, bei denen IgG und IgM im Sediment, aber kein HBs-AG gezeigt werden konnte.

3.2.7.0. Untersuchungen mit der säulenchromatographischen Methode

3.2.7.1. Allgemeine Beschreibung der Extinktionsprofile nach säulenchromatographischer Trennung

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde 1 ml "gepooltes" menschliches Normalserum (= NHS) und je 1 ml Serum von 10 Patienten mit HBs-Antigenämie und verschiedenen Lebererkrankungen (1 Patient mit akuter Hepatitis, 3 Patienten mit chronisch-aggressiver Hepatitis und 6 Patienten mit posthepatitischer Leberzirrhose), bei denen hohe PEG-Fällungswerte und eine hohe C_{1q}*-Deviation vorlagen, über eine 6 B-Sepharose-Säule chromatographisch getrennt. Bei fortlaufender Messung der optischen Dichte des Eluats bei 280 nm ergab sich ein Kurvenverlauf, der beispielhaft in Abb. 10 dargestellt ist. Nach einem Elutionsvolumen von etwa 180 ml war die erste schmalbasige Spitze zu verzeichnen, die im Bereich des vorderen Ausschlusses der Säule lag. Nach diesem Gipfel senkte sich die Kurve nicht ganz zur Nullinie zurück und stieg dann langsam zu einem zweiten Gipfelpunkt bei etwa 285 ml Elutionsvolumen an. Der Abfall erfolgte etwas rascher als der Anstieg, führte aber ebenfalls nicht bis zur Grundlinie zurück. Nach einem Elutionsvolumen von etwa 330 ml begann ein steiler Anstieg zu einem dritten Gipfel im IgG-Bereich, der bei 398 ml seinen höchsten Punkt erreichte. Danach erfolgte ein rascher Abfall fast bis zur Nullinie, die bei etwa 430 ml Elutionsvolumen nahezu erreicht wurde. Ein vierter kleiner Gipfel im Bereich des hinteren Ausschlusses nach

610 ml Eluat ist in Abb. 10 nicht mehr dargestellt. Die Unterschiede im Verhalten der optischen Dichte waren bei den 10 Patientenseren und dem NHS gering. Sie bezogen sich hauptsächlich auf eine geringe unterschiedliche Gipfelhöhe beim ersten und dritten Gipfel und einem etwas unterschiedlichen Beginn des Anstiegs zum dritten Gipfel.

3.2.7.2. Bestimmung des sog. IgG-Commencements und des monomer/dimer-Verhältnisses für IgG

Das mengenmäßige Vorkommen von IgG wurde im eluierten NHS und in den 10 eluierten Patientenseren im Elutionsvolumenbereich von 175 ml bis 330 ml im Abstand von fünf Fraktionen, ab 330 ml in jeder Fraktion gemessen. Das erste Auftreten von IgG ist als sogenanntes Commencement in Tabelle 22 für die einzelnen Seren angegeben. Tabelle 22 zeigt ebenfalls das monomer/dimer-Verhältnis des IgG der Seren (Erklärung s. 2.5.0.0.) und führt die Diagnosen bei den Patienten, deren Seren untersucht wurden, und die Mittelwerte von PEG-Fällung und C_{1q}*-Deviation entsprechend an. Das Commencement im Serum des einen untersuchten Patienten mit akuter, HBs-AG-positiver Hepatitis lag später als beim NHS, während das monomer/dimer-Verhältnis kleiner als im NHS war. Bei den drei Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis verhielt es sich in einem Fall ebenso wie beim Patienten mit akuter Hepatitis (späteres Commencement bei kleinerem monomer/dimer-Verhältnis), während die beiden anderen Kranken sowohl ein früheres Commencement als auch ein kleineres monomer/dimer-Verhältnis aufwiesen. Heterogen war das Verhalten der beiden Parameter bei den sechs untersuchten Seren von Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Leberzirrhose. Zwei Patienten hatten im Vergleich zum Verhalten des NHS ein früheres Commencement und ein größeres monomer/dimer-Verhältnis, zwei hatten ein gleiches ("normales") Commencement bei größerem monomer/dimer-Verhältnis, die zwei letzten schließlich ein früheres Commencement und ein kleineres monomer/dimer-Verhältnis. Die Tabelle 22 läßt erkennen, daß keine Korrelation zwischen frühem Commencement und niedrigem monomer/dimer-Verhältnis auf der einen sowie dem Ausmaß der C_{1q}*-Deviation als auch der PEG-Fällung im Serum auf der anderen Seite besteht.

3.2.7.3. Qualitative Analyse von säulenchromatographischen Fraktionen: Reaktion im C_{1q}*-Deviations- und PEG-Fällungstest, Gehalt an IgG, IgM und HBs-AG

Um etwaige Aussagen über die Zusammensetzung zirkulierender IK, die mit Hilfe des C_{1q}*-Deviationstests und der PEG-Fällung nachweisbar sind, machen zu können, wurden bei den 10 säulenchromatographisch aufgetrennten Patientenseren 6 verschiedene Eluatbereiche von je 24 ml (entspr. 6 Fraktionen) auf Volumina von je 1 ml eingeengt. Anschließend wurden C_{1q}*-Deviation, PEG-Fällung, IgG-, IgM- und HBs-AG-Gehalt geprüft. Die Abb. 10 zeigt die sechs mit "pool 1" bis "pool 6" fortlaufend bezeichneten Eluatbereich, in denen eingeengt und weiter untersucht wurde. "Pool 1" lag im Bereich des vorderen Ausschlusses. "Pool 2" lag in einem Bereich, bei dem aufgrund der Säuleneichung (s. Abb. 11) Moleküle mit einem Molekulargewicht von ungefähr 1,8 Millionen zu erwarten waren und in dem regelmäßig IgM nachgewiesen werden konnte (s. Tab. 23). "Pool 3" umfaßte den Bereich des frühen IgG-Nachweises, "pool 4" den Bereich des IgG-Anstiegs, "pool 5" den Bereich, in dem die höchste IgG-Konzentration gefunden wurde und "pool 6" schließlich den Bereich, in dem die IgG-Konzentration wieder abfiel. Im folgenden sollen die Ergebnisse in den einzelnen "pools" bei den 10 untersuchten Patienten betrachtet werden (s. Tab. 23; die Patientennummern 1 - 10 entsprechen dabei den in Tab. 22 genauer bezeichneten Patienten):

Im "pool 1" wurde in 2 Fällen eine signifikant positive C_{1q}*-Deviation (signifikant positiv = C_{1q}*-Deviation > $\bar{x} + 2s$ im Serum des gesunden Kontrollkollektivs, d. h. > 24,2 %) gefunden; die PEG-Fällung war 4mal signifikant erhöht (signifikant positiv = PEG-Fällung > $\bar{x} + 2s$ im Serum des gesunden Kontrollkollektivs, d. h. > 12,3 %). IgG konnte 3mal, IgM 4mal und HBs-AG in jedem Fall nachgewiesen werden. Ein übereinstimmender Nachweis von positiver C_{1q}*-Deviation, positiver PEG-Fällung IgG und HBs-AG ergab sich nur in einem Fall (Pat. Nr. 9). Drei Fälle zeigten in "pool 1" zugleich eine erhöhte PEG-Fällung, IgM und HBs-AG.

Im "pool 2" war bei 3 Patienten die PEG-Fällung positiv. Ebenfalls 3 Patienten wiesen in diesem Elutionsbereich IgG auf. IgM

und HBs-AG wurden in allen Fällen nachgewiesen, während die C_{1q}*-Deviation nirgends signifikant positiv war. Ein übereinstimmender Nachweis der Parameter war nur bei einem Patienten (Nr. 5) vorhanden, der gleichzeitig einen signifikant erhöhten PEG-Fällungswert, IgG, IgM und HBs-AG aufwies.

Im "pool 3" konnte bei keinem Patienten eine positive C_{1q}*-Deviation und nur bei einem Patienten eine signifikant positive PEG-Fällung gefunden werden. IgG war in allen Fällen, HBs-AG in 7 der 10 Fälle, IgM in keinem Fall vorhanden. Gemeinsame Übereinstimmung der Größen fand sich nur bei Patient Nr. 10, bei dem in diesem Bereich gleichzeitig IgG und ein signifikant erhöhter PEG-Fällungswert nachweisbar waren.

Der "pool 4" enthielt in allen Fällen IgG, in 3 Fällen HBs-AG und in keinem Fall IgM. Bei einem Kranken (Patient Nr. 7) waren C_{1q}*-Deviation und PEG-Test signifikant erhöht, drei weitere zeigten nur einen signifikant erhöhte PEG-Fällungswert. Eine Übereinstimmung der Parameter herrschte in einem Fall mit gleichzeitigem Nachweis von positiver PEG-Fällung, positiver C_{1q}*-Deviation und IgG (Pat. Nr. 7), zwei Patienten mit lediglich positivem PEG-Test und IgG (Nr. 5 und Nr. 1) und schließlich bei einem weiteren Patienten mit positiver PEG-Fällung, IgG und zugleich positivem HBs-AG-Nachweis.

Weder IgM noch- mit einer Ausnahme - HBs-AG fand sich im "pool 5". IgG war dagegen immer vorhanden. Die C_{1q}*-Deviation war in einem Fall, die PEG-Fällung bei zwei Patienten signifikant erhöht. Eine gleichzeitige Positivität zweier Parameter zeigten Patient Nr. 2 (C_{1q}*-Deviation und IgG) sowie Patient Nr. 1 und Nr. 3 (IgG und PEG-Fällung).

In "pool 6" hatte kein Patient eine positive C_{1q}*-Deviation und nur ein Patient wies einen signifikant erhöhten PEG-Fällungswert auf. IgG war in jedem, IgM in keinem und HBs-AG in nur einem Fall nachweisbar. Nur Patient Nr. 10 hatte gleichzeitig IgG und eine signifikant erhöhte PEG-Fällungsrate im "pool 6".

In Tabelle 24 sind die Gesamtzahl der Fälle mit signifikant positiver C_{1q}*-Deviation und signifikanter PEG-Fällung im jeweiligen "pool" sowie das gleichzeitige Auftreten mit Immunglobulinen und HBs-AG erfaßt.

4.0.0.0. Diskussion

4.1.0.0. Diskussion der Voraussetzungen und der Fragestellung der Arbeit

Die akute Virushepatitis gehört in Deutschland und weltweit gesehen zu den häufigsten Infektionserkrankungen. Sie beeinflußt das Schicksal des Patienten oft wesentlich und stellt volkswirtschaftlich gesehen einen außerordentlich belastenden Faktor dar. Dieses trifft in besonderem Maße dann zu, wenn aus der akuten Virushepatitis eine chronische Leberentzündung hervorgeht, die dann noch weiter in eine Leberzirrhose und einen bösartigen Lebertumor übergehen kann. Deswegen sind in den letzten Jahren, insbesondere im Anschluß an die Entdeckung des sogenannten Australia-Antigens (heute: HBs-AG) durch Blumberg et al. 1963 (5), zahlreiche Untersuchungen durchgeführt worden, um die Ätiologie der Virushepatitis zu erklären und die formale und insbesondere kausale Pathogenese ihrer unterschiedlichen Verlaufsformen darzustellen. Erst eine hinreichende Klärung dieser Fragen könnte die Grundlage für prophylaktische Maßnahmen oder zu einer Therapie der akuten und insbesondere der chronischen Hepatitis ergeben.

Es ist bisher aber noch nicht gelungen, das Virus der Hepatitis bzw. die Viren der unterschiedlichen Hepatitisformen (A, B, vielleicht auch C) zu isolieren, anzuzüchten und nach Wirtspassagen wiederzuentdecken. Die Schwierigkeiten hierfür resultieren einmal aus der geringen Größe des Erregers, zum zweiten aus den von Virusbestandteilen unabhängigen, möglicherweise vom Wirtsorganismus abkömmlichen Substanzen, die in infizierten Wirtsorganismen regelmäßig das Virus begleiteten und nicht zuletzt daraus, daß es keine geeigneten Versuchstiere gibt, da neben dem Menschen nur wenige Primaten durch diese Erreger erkranken. Deswegen ist es unvermeidbar, eingehende Untersuchungen an spontan infizierten und erkrankten Patienten durchzuführen. Solche Versuche finden aus ethischen Gründen naturgemäß enge Grenzen.

Das hat in den letzten Jahren dazu geführt, daß eine große Anzahl von insbesondere immunologischen Phänomenen im Rahmen der akuten und chronischen Leberentzündung beobachtet und beschrieben wor-

den sind, wobei jedoch oftmals nicht mit Sicherheit angegeben werden kann, ob es sich hierbei um bloße Begleitphänomene oder um pathogenetisch wirksame Mechanismen handelt. Zu diesen immunologischen Phänomenen, die inzwischen relativ gut aufgedeckt worden sind, gehören der Nachweis von mit dem Virus insbesondere der Hepatitis B eng assoziierten Partikeln, dem HBs-AG, dem HBc-AG, dem "e"-AG und der entsprechenden virusassoziierten DNA-Polymerase bzw. Aktivität im Serum. Daneben sind auch antigenetische Untereinheiten auf dem komplexen HBs-AG wie a, d, y, r, w usw. beschrieben und durch unterschiedliche Antiseren menschlicher und tierischer Herkunft definiert worden. Neben diesen hepatitisassoziierten Antigenen sind Antikörper in den Immunglobulinklassen IgG, IgM, selten auch IgA gegen HBs-AG, HBc-AG, "e"-AG bzw. die beschriebenen Untereinheiten des HBs-AG beschrieben worden. Für alle diese Antigene und Antikörper liegen zur Zeit relativ gute Daten hinsichtlich ihrer Inzidenz bei den unterschiedlichen Erkrankungen und Erkrankungsverläufen mit Hepatitis, hinsichtlich ihres Erscheinens, Verschwindens oder Verbleibens im Verlauf der Erkrankung, hinsichtlich unterschiedlicher Verteilungsmuster bei unterschiedlichen menschlichen Populationen und bei Primaten und hinsichtlich ihres Auftretens im Gewebe von Erkrankten bzw. im Serum vor. Ähnliche, aber noch nicht so weit ausgedehnte Befunde sind in den letzten Jahren für die Virushepatitis A und zuletzt auch in ersten Anfängen für die weder der Gruppe A noch der Gruppe B zugehörige Virushepatitis, die auch häufig als Virushepatitis C bezeichnet wird, angesammelt worden. Neben diesen Parametern der humoralen Immunologie sind auch zahlreiche zellulär-immunologische Phänomene beschrieben worden. Dazu gehören insbesondere die spontane Lymphozytenproliferation, die Stimulierbarkeit von Lymphozyten, die spezifische Sensibilität von Lymphozyten gegen hepatitisassoziierte Antigene, die Verteilung immunkompetenter Lymphozyten im erkrankten Gewebe usw.. Die Beobachtung dieser Parameter sowie selbstverständlich auch ausgedehnte klinische Beobachtungen haben unsere Vorstellung von der Entstehung und vom Verlauf der Hepatitis in den letzten Jahren erheblich beeinflußt, so daß heute außer Frage steht, daß immunologischen Reaktionen auf den eingedrungenen Erreger nicht nur beim Verlauf der Erkrankung sondern auch bei

ihrer Entstehung eine entscheidende Bedeutung zukommt. Besonders klar wird diese Bedeutung immunologischer Reaktionen aus der Beobachtung einer bestehenden Immunität gegen die Virushepatitis B nach durchgemachter HBs-AG-positiver Hepatitis und gegen die Hepatitis A nach durchgemachter Virushepatitis A, jedoch das Fehlen einer Kreuzimmunität, desweiteren auch aus der effektiven Prophylaxe gegen die Entwicklung einer Virushepatitis B bei der überwiegenden Mehrzahl der mit infektiösem Material (Blut und anderen Körperflüssigkeiten von Erkrankten) Infizierten durch Hyperimmungammaglobuline gegen HBs-AG oder gegen die Entwicklung einer Virushepatitis A mit handelsüblichen Gammaglobulinpräparationen. Wenn also die humorale Immunitätslage mitentscheidend dafür ist, ob sich nach einer Infektion eine Infektionserkrankung entwickelt oder nicht, so scheint doch weniger die humorale als die zelluläre immunologische Reaktionsfähigkeit für den Verlauf, den eine einmal entstandene Erkrankung nimmt, zu haben: wurden doch bei Patienten mit einer Agammaglobulinämie vom reinen B-Lymphozyten Defizienztyp normale akute, fulminante, in Chronizität und symptomlose HBs-AG-Persistenz übergehende Verläufe der Virushepatitis B in der gleichen Weise beobachtet, wie bei Patienten mit Hepatitis B ohne solche Störungen der humoralen Abwehr. Bei Störungen der zellulären Reaktionsfähigkeit des Organismus dagegen, angeboren (wie z. B. beim Down's Syndrom), erworben (wie z. B. bei der Lepra, dem Boeckschen Sarkoid oder lymphatischen Systemerkrankungen), toxisch ausgelöst (wie z. B. bei der chronischen, terminalen Niereninsuffizienz) oder medikamentös induziert (wie z. B. bei einer Behandlung mit Zytostatika, Immunosuppressiva und Glucocorticosteroiden), werden chronische Hepatitisverläufe und HBs-AG-Persistenz gehäuft beobachtet. Möglicherweise sind diese unterschiedlichen immunologischen Reaktionsfähigkeiten nicht nur von solchen gut faßbaren Ereignissen, wie den soeben geschilderten, abhängig, sondern auch von genetischen Voraussetzungen; haben doch Untersuchungen von Blumberg und Mitarb. an einer nahezu vollständig mit Virushepatitis B durchseuchten Population gezeigt, daß die Chance, im Falle eines Kontakts mit dem Virushepatitis B-Virus eine HBs-AG-Persistenz zu entwickeln, d. h. den eingedrungenen Erreger nicht endgültig zu eliminieren, rezessiv vererbt wird (6, 7). Die Arbeits-

hypothese, daß das Ausmaß der zellulär-immunologischen Reaktionsfähigkeit in etwa parallel geht mit der Eliminationsfähigkeit des befallenen Organismus für den Erreger, aber auch mit dem Ausmaß der Leberzellzerstörung in einer gegebenen Zeitspanne, ist heute durch zahlreiche Einzelbefunde unterschiedlicher Arbeitsgruppen gut belegt und weitgehend als pathogenethisches Konzept anerkannt: Patienten mit sehr starken zellulär-immunologischen Reaktionen werden demnach den Erreger sehr rasch eliminieren können, aber zugleich auch pro Zeiteinheit eine sehr große Anzahl von Leberzellen zerstören, so daß eine fulminante Hepatitis resultiert, die häufig einen letalen Ausgang zeigt; Patienten mit einer starken zellulär-immunologischen Reaktionsfähigkeit werden den Erreger immer noch relativ rasch eliminieren, aber die Leberzellzerstörung pro Zeiteinheit wird das Ausmaß der Leberregenerationsfähigkeit nicht überschreiten, so daß ein deutlicher klinischer, ikterischer Verlauf der Erkrankung resultiert, aber die Krankheit gut überstanden werden kann; Patienten mit einer verminderten zellulär-immunologischen Reaktionsfähigkeit werden den Erreger nur sehr protrahiert oder überhaupt nicht eliminieren können, zugleich aber pro Zeiteinheit auch nur sehr wenige Leberzellen zerstören, so daß daraus gehäuft eine subklinische, oft anikterische Hepatitis, aber eben auch eine chronische Verlaufsform resultiert; Patienten mit fehlender zellulär-immunologischer Reaktionsfähigkeit gegen diesen Erreger werden ihn nicht eliminieren können, zugleich aber auch keine Leberzellzerstörung erfahren, so daß daraus sogenannte gesunde HBs-AG-Träger resultieren. Obwohl die Beobachtungen humoraler und zellulärer Immunreaktionen bei der Virushepatitis, insbesondere der Virushepatitis B, ein relativ geschlossenes Gebäude von Hypothesen zur pathogenetischen Erklärung der Virushepatitis anbieten, kann nicht übersehen werden, daß doch noch zahlreiche Fragen offen bleiben. Zu diesen Fragen zählt einmal das Problem , inwieweit es sich bei den beschriebenen immunologischen Phänomenen jeweils um begleitende Immunreaktionen oder um pathogenetisch wirksame Mechanismen handelt. Zum zweiten waren es aber insbesondere relativ seltene Komplikationen vorwiegend chronischer Hepatitiden, wie die Panarteriitis nodosa und die Glomerulonephritis sowie das Auftreten allergischer Phänomene wie der Arthritis, der Urticaria u. a.

bei der akuten Virushepatitis oder in ihrem Prodromalstadium, die die mögliche Bedeutung zirkulierender IK bei der Pathogenese der akuten Virushepatitis und ihrer chronischen Verlaufsform unterstrichen haben. Schon relativ bald nach der Entdeckung des HBs-AG sind elektronenmikroskopisch von Almeida und Waterson (4) IK in Serumzentrifugaten bei bestimmten Verlaufsformen der Hepatitis beobachtet worden. Andere Arbeitsgruppen haben später, vorwiegend mit Immunfluoreszenzmethoden IK bzw. ihre Bestandteile (HBs-AG, Ig und Komplement) in der Leber oder bei komplizierender Glomerulonephritis in der Niere oder bei komplizierender Panarteriitis nodosa in Gefäßwandungen nachweisen können (11, 18, 28, 41). Über zirkulierende IK im Serum von Patienten mit Hepatitis liegen bislang aber nur sehr wenige Befunde vor. Arbeiten von Alpert et al. (1, 2) haben schon frühzeitig auf eine Verminderung zirkulierender Komplementfraktionen hingewiesen, die auf einen Komplementverbrauch durch Bindung an zirkulierende IK schließen lassen, wobei jedoch nicht ausgeschlossen werden kann, daß sie sich jeweils unmittelbar im Gewebe ablagerten. Wands (59), Theophilopoulos (55), Prince (47), Trépo (57), Nydegger (42) und Hütteroth (25) haben mit unterschiedlichen Methoden zirkulierende IK bei Patienten mit akuter und chronischer Hepatitis nachzuweisen versucht.

Nach der Beschreibung der humoralen und der zellulären Immunreaktionen erscheint diese Ergänzung des Spektrums immunologischer Parameter (Nachweis zirkulierender IK) bei der akuten und chronischen Hepatitis unbedingt erforderlich. An diesem Punkt der Forschung ist die vorgelegte Arbeit angesiedelt. Da in den bisherigen Untersuchungen unterschiedliche Methoden verwandt wurden, kam es zunächst einmal darauf an, mehrere Methoden zu erarbeiten, zu standardisieren und vergleichend zum IK-Nachweis einzusetzen. Aufbau, Standardisierung und Vergleiche von Methoden zum IK-Nachweis mußten am Beginn der Arbeit stehen, sollten aber möglichst rasch mit der IK-Inzidenz-Erhebung bei Patienten mit unterschiedlichen Lebererkrankungen verbunden werden. Diese Untersuchungen machen auch den Schwerpunkt der Arbeit aus, während von den Versuchen zur Charakterisierung der IK nicht erwartet werden konnte, daß sie schon zu abschließenden Ergebnissen kämen. Letztlich haben aber gerade auch diese letzten Ergebnisse entscheidend dazu beigetragen,

die Schwierigkeiten kritisch zu sehen, die eine Erfassung der zirkulierenden IK auch heute noch bereitet, wie weiter unten dargelegt werden wird.

4.2.0.0. Diskussion der Methoden der Arbeit

Die Gruppen zu untersuchender Patienten konnten beim Entwurf der Arbeit festgelegt werden. Im folgenden bestand aber eine Abhängigkeit von den im Untersuchungszeitraum hier in der Klinik stationär oder ambulant zur Untersuchung gelangenden Patienten. Daraus resultierten auch die sehr unterschiedlich großen Kollektive. Einige von ihnen sind (mit n > 20) ausreichend, andere wiederum so klein, daß Prozentangaben und statistische Berechnungen nur sehr eingeschränkt möglich sind und teilweise nur zum besser ablesbaren Vergleich mit den größeren Gruppen gerechtfertigt werden. Andererseits erbrachte die Möglichkeit, auf Patienten der Klinik zurückgreifen zu können, den Vorteil, über ein klinisch, laborchemisch und histologisch gut untersuchtes Kollektiv verfügen zu können.

Eine weitere Grundvoraussetzung für die angestrebten Untersuchungen war die Verfügbarkeit radioaktiv markierten Komplements der Fraktion C_{1q}. Da dieses nicht käuflich zu erhalten ist, mußte die Protein-Markierung selbst vorgenommen werden. ^{125}J in der geeigneten spezifischen Aktivität war im Handel zu erhalten. C_{1q} wurde von den Behringwerken AG, Marburg, zur Verfügung gestellt. Bei den Markierungsversuchen mußte die Erfahrung gemacht werden, daß ein bestimmter, enger Konzentrationsbereich von C_{1q} erforderlich war. Vorversuche hatten zunächst keine ausreichende Markierung erbracht. Die Ausbeute an ^{125}J-markiertem C_{1q}, bezogen auf die Gesamtmenge des Isotops, betrug schließlich ca. 30 %. Damit kann festgehalten werden, daß die Radiojodierung von C_{1q} mittels Laktoperoxidase reproduzierbar und etabliert, aber abhängig von der Charge und Konzentration des erhältlichen C_{1q} ist. Die spezifische Aktivität des ^{125}J-C_{1q} (C_{1q}*) war so eingestellt, daß C_{1q}*-Mengen bis hinunter zu 0,017 µg sicher anhand der Zerfallsrate gemessen werden konnten. Eine Bindung von weniger als 5 % des zugesetzten C_{1q}* in einem einzelnen Ansatz konnte also noch wiederaufgefunden werden.

Die C_{1q}*-Deviationsmethode wurde in enger Anlehnung an die Angaben von Sobel und Mitarb. (52) erarbeitet, wobei es vor allem auf eine präzise Einstellung der Puffer-Lösungen (auch hinsichtlich ihrer Leitfähigkeit) ankam. Der Zusatz von C_{1q}*-Lösung wurde geringfügig geändert (s. 2.3.0.0.). Bis zur Erlangung einer guten Reproduzierbarkeit bedurfte es einiger Vorversuche. Als Schwierigkeit bei dieser Methode ist der Umstand anzusehen, daß für die täglichen Ansätze Hammelerythrozyten frisch sensibilisiert und ihr Sensibilisierungsgrad so eingestellt werden mußte, daß sie möglichst genau 50 % des C_{1q}* in Kontrollansätzen (mit NHS) binden konnten. Dadurch kam auch eine gewisse Variabilität in die absolute Höhe der Einzelergebnisse. Sinnvoller erschien es demnach, in den täglich parallel geführten Bestimmungen eine gesonderte Bewertung nach positiven und negativen Befunden anhand der jeweiligen Kontrollen vorzunehmen. Darauf wird weiter unten noch eingegangen werden.

Um Vergleiche mit einer anderen Methode ziehen zu können, die nach Möglichkeit den zuletzt dargelegten Nachteil nicht mit einschloß, wurde die Polyäthylenglykol -Präzipitationsmethode nach Nydegger et al. (42) erarbeitet und mit in das Untersuchungsprogramm aufgenommen. Diese Substanz mit einem Molekulargewicht von 6.000 ist in der Lage, IK bzw. Proteine oder proteinhaltige Komplexe mit Molekulargewichten in der Größenordnung von IK fein zu präzipitieren, so daß die Präzipitate bei hochtouriger Zentrifugation sedimentiert werden können (Einzelheiten s. bei (12, 42)). Die Originalmethode wurde geringfügig abgewandelt: der Ansatz enthielt nämlich aufgrund einer Differenz in der Konzentration der C_{1q}*-Lösung 405 statt original 450 µl. PEG wurde in derselben Menge (3 ml) wie in der Originalmethode zugesetzt; die PEG-Konzentration in der verwendeten Lösung wurde etwas geringer gewählt, damit die PEG-Endkonzentration im Gesamtansatz der in der Originalmethode angegebenen entsprach. Insgesamt erwiesen sich die mit der PEG-Präzipitationsmethode ermittelten Absolutwerte im Vergleich zu den mit der C_{1q}*-Deviationsmethode ermittelten als besser reproduzierbar, d. h. die Schwankungen in den Kontrollansätzen waren geringer. Vergleicht man jedoch die indi-

viduellen Beurteilungen des IK-Gehaltes, der an einem Tag in einem Ansatz untersuchten Seren auf der Basis der jeweils vom Tage stammenden Kontrollen, so waren beide Methoden etwa gleich gut reproduzierbar. Damit ist die prinzipielle Aussagekraft dieser beiden Methoden über die Gegenwart von IK in einem Serum noch nicht gewertet (s. u.).

Die Aufnahme der PEG-Fällungsmethode eröffnete eine weitere Untersuchungsmöglichkeit, wurden aus einem untersuchten Serum doch weitgehend isoliert IK ausgefällt. Eine Untersuchung der Präzipitate, die man wieder zu Suspensionen aufschütteln konnte, auf ihren Gehalt an HBs-AG, IgG und IgM ermöglichte Aussagen über den Antigen- und Antikörpergehalt der IK, bedeutete ein Nachweis von zirkulierenden IK schlechthin ja noch nicht, daß diese IK ein bestimmtes AG, wie das HBs-AG mit einschloß und daß ein bestimmter AK, wie etwa Anti-HBs-AG-IgG oder Anti-HBs-AG-IgM, an ihrer Bildung beteiligt waren.

Allgemein kann festgestellt werden, daß nur sehr spärliche Befunde über die Charakterisierung von zirkulierenden IK vorliegen (21, 32, 47, 59), die meisten beziehen sich noch auf den Lupus erythematodes und DNA als Antigen sowie Anti-DNA als Antikörper. Bei der Hepatitis sind zahlreiche AG als Bestandteile zirkulierender IK denkbar: HBs-AG, HBc-AG und "e"-AG bei der akuten Virushepatitis B und ihren chronischen Verlaufsformen sowie eventuell bei gesunden HBs-AG-Trägern; ein entsprechendes AG der Virushepatitis A (hypothetisch); Substanzen aus Leberzellmembranen wie leberspezifisches Lipoprotein usw.. Es war nun im Rahmen dieser Arbeit nicht vorgesehen, allen diesen Möglichkeiten nachzugehen. Erste Versuche zur IK-Charakterisierung wurden aber angestrebt. Am erfolgversprechendsten erschienen Untersuchungen bei Patienten mit einem wohldefinierten AG wie dem HBs-AG. Die PEG-Präzipitate dieser Patienten wurden demnach auf ihren HBs-AG-, IgG- und IgM-Gehalt hin untersucht. Die gleichen Untersuchungen wurden auch mit säulenchromatographisch aus Seren solcher Patienten abgetrennten Fraktionen, in denen aufgrund der Ergebnisse mit der C_{1q}*-Deviations- und der PEG-Präzipitationsmethode IK vermutet wurden, durchgeführt, worauf weiter unten eingegangen wird. In den PEG-Präzipitaten und den Fraktionen aus der Säulenchromato-

graphie wurde der Nachweis von HBs-AG sowie IgG und IgM direkt geführt, d. h. in der Annahme zum immunologischen Nachweis noch ausreichender freier antigener Determinanten von HBs-AG, IgG und IgM oder in der Annahme einer zumindest partiellen Spontandissoziation von IK ohne IK-Spaltung etwa durch Säuren (pH-Verschiebung) und eine anschließende chromatographische Trennung. Es wurde auch auf eine nähere Charakterisierung von IgG und IgM verzichtet, d. h. ein direkter Anti-HBs-AG-Antikörper (HBs-AK)-Nachweis wurde nicht geführt, hätte man damit doch einen erheblichen Sensibilitätsverlust in Kauf nehmen müssen, der möglicherweise zu „falsch-negativen" Ergebnissen geführt hätte. Einzig ein HBs-AK-Nachweis im radioimmunologischen Verfahren wäre sensibel genug gewesen; diese Möglichkeit war aber wegen der schon durch ^{125}J-C_{1q} vorhandenen Radioaktivität im PEG-Sediment ausgeschlossen. Ein Nachweis von "Gesamt-IgG" bzw. "Gesamt-IgM" war dagegen erfolgversprechend, wenn auch der gleichzeitige Nachweis eines dieser Immunglobuline und des HBs-AG im PEG-Präzipitat oder in einer bestimmten säulenchromatographischen Fraktion nur den indirekten Schluß zuließ, daß die nachgewiesenen Immunglobuline HBs-AK-Aktivität enthielten. Die Ergebnisse der Untersuchungen an PEG-Präzipitaten werden später gemeinsam mit den an den Fraktionen erhobenen diskutiert.

Die säulenchromatographische Trennungsmethode von Seren zum IK-Nachweis wurde nach den Angaben von Roberts-Thomson et al. (49) aufgebaut. Es wurden aber folgende Modifikationen durchgeführt: Die Säulenlänge wurde vergrößert, um eine weitergehende Fraktionierung zu ermöglichen und die Durchflußgeschwindigkeit wurde erhöht, um eine Chromatographie in ca. 18 Std. abschließen zu können. Das Prinzip des Nachweisverfahrens wurde jedoch gewahrt. Es beruht auf der Vorstellung, daß IK die IgG enthalten, schwerer, d. h. höher-molekular als IgG sind und somit früher eluiert werden so etwa, wie es vergleichsweise mit dimerem im Vergleich zu monomerem IgG geschieht. Ein Auftreten von IgG in früheren Fraktionen als bei der Normalserumchromatographie, also ein IgG-"commencement", nach geringerer Anzahl von ml eluierten Volumens, und eine Verschiebung des Mengenverhältnisses von nach-

weisbarem IgG in monomeren und dimeren Molekulargewichtsbereichen von IgG zugunsten des höher-molekularen (dem dimeren entsprechenden) IgG könnten demnach als Hinweise auf die Anwesenheit von höher-molekularem IgG als von IK-gebundenem IgG gelten.

Nach der Standardisierung der C_{1q}*-Deviations- und der PEG-Fällungsmethode galt es, der Möglichkeit falsch positiver Befunde nadzugehen. Es ist bekannt, daß DNA und Endotoxin C_{1q} zu binden vermögen. Ihre Anwesenheit in den Seren mußte also ausgeschlossen werden, bevor IK als nachgewiesen angesehen werden konnten. Zum Nachweis von Endotoxin bietet sich der Limulus polyphemus-Test an, der als Pyrogent^{R}-Test käuflich ist und nach den Angaben der Firma Byk-Mallinckrodt, Dietzenbach, durchgeführt wurde. Dieser Test wurde hier nicht selbst auf seine Wertigkeit hin überprüft, nachdem die Arbeitsgruppen Egbring und Hoffmann, Marburg, und - speziell bei Patienten mit Lebererkrankungen - Liehr, Würzburg, mit diesem Test über gute Erfahrungen berichtet haben und ein besseres in vitro-Nachweisverfahren für Endotoxin zur Zeit nicht zur Verfügung steht. Der Pyrogent^{R}-Test kann falsch positiv reagieren, z. B. bei erhöhten Gallensäurekonzentrationen im Serum. Er gilt aber als sensibler Test und übertrifft den hier auch untersuchten Endotoxin-Nachweis durch die Migrationsinhibition peripherer Monozyten/Makrophagen (Verhandlungen der Gesellschaft für Immunologie, 1971, Marburg: G. Springer, C. P. Sodomann). Bei Vorliegen eines positiven Limulus polyphemus-Tests mußte angenommen werden, daß das untersuchte Serum Endotoxin enthielt und daß das enthaltene Endotoxin durch C_{1q}*-Bindung einen "falsch positiven" C_{1q}*-Deviation- bzw. PEG-Fällungstest hervorrief. In diesem Falle wurde der IK-Nachweis als negativ bewertet. Es muß aber festgestellt werden, daß in einem solchen Fall die zusätzliche Anwesenheit von IK im Serum experimentell nicht ausgeschlossen werden konnte. Wie später eingehender diskutiert wird, bedeuten negative Ergebnisse mit dem C_{1q}+-Deviations- und dem PEG-Fällungstest ohnehin nicht den sicheren Ausschluß zirkulierender IK. Der Pyrogent^{R}-Test fiel nur bei zwei Patienten mit kryptogener Leberzirrhose positiv aus.

Der spezifische Nachweis von DNA im Serum ist äußerst schwie-

rig. Deshalb wurde eine unspezifische C_{1q}*-Bindung durch DNA mittels DNase-Vorbehandlung der untersuchten Seren ausgeschlossen. Lagen die C_{1q}*-Deviations- oder PEG-Fällungswerte nach DNase-Behandlung eindeutig niedriger als vor der Enzyminkubation, so mußte auf die Anwesenheit von DNA geschlossen werden, die C_{1q}* gebunden hatte. Die Wirkung von DNase ist streng spezifisch. Eine Beeinflussung von IK durch DNase findet nicht statt. Der Ausschluß "falsch positiver" Ergebnisse im C_{1q}*-Deviations- und PEG-Fällungstest durch eventuell vorhandene DNA im Probandenserum gelang, wie die Vorversuche zeigten (s. 3.1.0.0.), sicher. DNA konnte mit diesem indirekten Nachweisverfahren - mit zwei Ausnahmen - nie in den untersuchten Seren in einer solchen Konzentration nachgewiesen werden, daß es dadurch zu einer unspezifischen C_{1q}*-Bindung gekommen wäre.

Die Nachweisverfahren für HBs-AG und Immunglobuline, die angewendet wurden, sind Routine-Labormethoden. Die Sensibilität des IgG- und IgM-Nachweises auf Partigen^{R}-Platten bei sehr geringen Ig-Konzentrationen wurde selbst überprüft und anhand von Eichkurven (s. 2.8.0.0.) festgehalten.

4.3.0.0. Diskussion der Ergebnisse der Arbeit

4.3.1.0. Vorversuche

In den Vorversuchen konnte gezeigt werden, daß sowohl der C_{1q}*-Deviationstest wie auch der PEG-Fällungstest mit etwa gleicher Sensibilität auf die Anwesenheit von DNA oder agg. IgG (als eine Art "Modell-IK") ansprechen. Mit der C_{1q}*-Deviationsmethode können noch 40 µg agg. IgG sicher nachgewiesen werden, d. h. ihre Anwesenheit in einem Endvolumen von 40 µl (Konz. 1 µg agg. IgG/µl) rufen eine Deviation hervor, die die zweifache Standardabweichung vom mittleren Normalwert überschreitet. Bei der PEG-Fällungsmethode können noch 160 µg agg. IgG in einem Endvolumen von 240 µl (Konz. 0,$\overline{66}$ µg agg. IgG/µl) sicher ($> \bar{x} + 2s$) nachgewiesen werden, wenn man von einer Eichkurve ausgeht, die die Menge von agg. IgG und die Prozentsätze der PEG-Fällung ins Verhältnis setzt.

In einem Bereich von 1 - 3 bzw. 0,$\overline{66}$ - 2,7 µg agg. IgG/µl ergeben sich Prozentsätze für die C_{1q}*-Deviation bzw. die PEG-Fällung in etwa geradliniger Funktion. Der Prozentwert aus den beiden Methoden gibt also nicht nur eine qualitative Auskunft (Gegenwart von IK bei Werten > $\bar{x}$ + 2s des Normalkollektivs), sondern darüber hinaus eine semiquantitative Information über die IK-Menge.

4.3.2.0. Hauptversuche

Die mittlere C_{1q}*-Deviation von 10,3 % bei 15 gesunden Probanden, die das normale Kontrollkollektiv bildeten, weist daraufhin, daß eine unspezifische C_{1q}*-Bindung durch normales Serum, das dekomplementiert worden war, im geringen Ausmaß erfolgt. Im Rahmen dieser Untersuchung ist der Frage, welche Serumbestandteile dafür verantwortlich sind und insbesondere dem Problem, ob geringere Mengen von "spontan aggregierten Immunglobulinen" dabei eine Rolle spielten, nicht näher nachgegangen worden. Vielmehr sind bei der IK-Bestimmung nur solche Werte als signifikant positiv aufgefaßt worden, die $\bar{x}$ + 2s des Normalkollektivs, d. h. 24,2 % überschritten. Da die extremsten Einzelwerte im Kontrollkollektiv 0 und 18,5 % betragen, muß eingeräumt werden, daß die Überschreitung einer vierfachen Standardabweichung vom Mittelwert der Kontrolle ($\bar{x} \pm 2s$) als Voraussetzung zu einer positiven Bewertung einzelner Meßergebnisse die Inzidenzangabe über das Vorkommen von zirkulierenden IK in den verschiedenen Patientenkollektiven eventuell fälschlicherweise zu klein hält. Andererseits ließen diskrepante Befunde über die Gegenwart von IK in bestimmten Seren, die mit unterschiedlichen Methoden erhoben wurden, diese größere Vorsicht bei der Annahme der Signifikanzschranken zum gegenwärtigen Zeitpunkt angeraten erscheinen. Damit ist nicht ausgeschlossen, daß sich bei größerer Erfahrung und längerem Umgang mit der Methode die "Sensibilität" des Testes auch ohne prinzipielle Änderungen der Versuchsanordnung steigern läßt. Es wurden außerdem 11 Patienten, bei denen weder Leber- noch immunologische Erkrankungen vorlagen (s. Tab. 25), als weiteres Kontrollkollektiv untersucht. Der Mittelwert für die C_{1q}*-Deviation lag in dieser Gruppe mit 8,5 % etwas, aber nicht signifikant niedriger als im ersten Kontrollkollektiv, auch waren Schwankungsbreite (0 - 17 %) und Stan-

dardabweichung ($1s$ = 5,5) nicht wesentlich unterschiedlich.

Im ersten Ansatz wurden zum Vergleich der C_{1q}*-Deviationswerte der einzelnen Patientengruppen mit dem Kontrollkollektiv und untereinander die absoluten ermittelten Prozentwerte zusammengestellt und mit dem Student's-t-Test verglichen. Dabei mußte von vornherein berücksichtigt werden, daß sich wahrscheinlich nur einheitliche Kollektive signifikant unterscheiden würden. Bei Kollektiven, die jeweils nur einen kleineren Anteil von Patienten mit IK enthielten, würden die Unterschiede zwischen den Gruppen nicht mehr deutlich genug sein, um signifikante Unterschiede errechnen zu lassen. Außerdem gehen in eine solche Berechnung nicht nur qualitative Unterschiede der einzelnen Patienten einer Gruppe mit ein (also: Merkmal IK vorhanden oder nicht vorhanden), sondern auch quantitative, da die Höhe des Prozentwertes im Verhältnis zur Menge vorhandener IK steht. Ein Patient mit einer hohen Konzentration von IK in einer Gruppe könnte den Vergleich beispielsweise so beeinflussen, wie mehrere Patienten mit geringen, aber signifikant nachweisbaren IK-Mengen. Trotz dieser beachteten Einschränkungen konnte von einer Zusammenstellung und einem Vergleich absoluter C_{1q}*-Deviationswerte eine erste Überblicksinformation erwartet werden. In einem zweiten Schritt war dann der Anteil von Patienten mit signifikant positiven C_{1q}*-Deviationswerten, also mit einem IK-Nachweis für jede Gruppe zu ermitteln. Es war dabei fraglich, ob der Normbereich durch das Gesamtkollektiv der Gesunden als gegeben angesehen werden sollte, oder ob von den in jeder täglichen Bestimmung mitgeführten Normalserumansätzen ausgegangen werden sollte (womit den methodisch bedingten Schwankungen der absoluten Deviationswerte - wie in 3.2.1.2. dargelegt - Rechnung getragen würde). Es konnten keine Argumente gefunden werden, die eine eindeutige Entscheidung dieser Frage zugelassen hätten. Die Frage verlor aber ihre Relevanz durch die Festsetzung der hohen Signifikanzschwelle bei $> \bar{x} + 2s$. - Die vorstehenden Überlegungen gelten auch für die Beurteilung der Ergebnisse mit der PEG-Fällungsmethode mit der Ausnahme, daß die täglichen methodischen Schwankungen der Höhe der Absolutwerte bei diesem Test praktisch nicht ins Gewicht fielen.

Für folgende Gruppen ergab sich schon beim Vergleich der absoluten Deviationsprozentsätze ein signifikanter Unterschied zum gesunden Kontrollkollektiv: posthepatitische, HBs-AG-positive Leberzirrhose, kryptogene Leberzirrhose und primär-biliäre Zirrhose (die letzte Gruppe umschloß allerdings nur zwei Patienten). Es kann also zunächst festgestellt werden, daß sich mit der C_{1q}*-Deviationsmethode in Gruppen von Patienten mit posthepatitischer, zumeist über eine chronisch-aggressive Hepatitis entstandener, HBs-AG-positiver und mit kryptogener, HBs-AG-negativer Leberzirrhose gehäuft zirkulierende IK nachweisen lassen. In der Einzelauswertung zeigte sich dann auch, daß der Anteil von Patienten mit IK in diesen beiden Gruppen mit 13 von 24 (entspr. 54,1 %) bzw. mit 4 von 9 (entspr. 44,4 %) und auch bei der PBC mit 2 von 2 (entspr. 100 %) am höchsten war. Während in den beiden Kontrollkollektiven kein Patient mit IK gefunden wurde, kamen in den anderen untersuchten Patientengruppen solche mit IK seltener vor. Die Häufigkeit von IK war sehr unterschiedlich: sie betrug im einzelnen bei den Patienten im Zustand nach akuter, HBs-AG-positiver Hepatitis 50 % (2/4), bei Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-negativer Hepatitis 33,3 % (4/12), bei Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-negativer Leberzirrhose 29,4 % (5/17), bei Patienten mit chronisch-persistierender, HBs-AG-negativer Hepatitis 20 % (1/5), bei Patienten mit alkoholtoxischer Leberzirrhose 19 % (4/21) sowie bei den Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis 13,6 % (3/22). Nur bei Patienten mit akuter, HBs-AG-negativer Hepatitis, Zustand nach akuter, HBs-AG-negativer Hepatitis, chronisch-persistierender, HBs-AG-positiver Hepatitis, Leberzirrhose bei Hämochromatose und bei gesunden HBs-AG-Trägern wurden IK nicht angetroffen. In der Gruppe der Patienten mit Fettleber oder mit Fettleberhepatitis (zumeist alkoholtoxisch bedingt) waren nur in einem Ausnahmefall IK mit der C_{1q}*-Deviationsmethode nachweisbar.

Mit der PEG-Fällungsmethode ergab sich für das Kontrollkollektiv gesunder Probanden eine mittlere Ausfällung von markiertem C_{1q} aus dem Überstand ins Präzipitat von 6,7 %, was für eine geringe, aber konstant meßbare, wenn auch in ihrem Ausmaß etwas

variable, unspezifische C_{1q}*-Bindung an Bestandteile des normalen Serums spricht, die sich mit Polyäthylenglykol präzipitieren lassen. Der Frage, um welche Bestandteile es sich dabei handelt, ist in der vorliegenden Arbeit nicht näher nachgegangen worden. Als doppelte Standarddeviation ($2s$) ergaben sich 5,6 %. Der höchste und niedrigste tatsächlich ermittelte Einzelwert in diesem Normalkollektiv lag innerhalb der $\pm$ $2s$-Abweichung. Für das zweite Kontrollkollektiv, das aus hospitalisierten Patienten ohne immunologische oder Lebererkrankungen bestand, ergab sich mit 8,7 % ein etwas höherer Mittelwert, die Streubreite der Werte war jedoch noch geringer und alle Einzelwerte wurden in dem $2s$-Bereich des ersten Kontrollkollektivs angetroffen. Somit konnte davon ausgegangen werden, daß Werte, die $\bar{x} + 2s$ des Normalkollektivs überschritten, signifikant erhöht waren und somit als Hinweis auf das Vorliegen von IK im Serum gewertet werden konnten, die sich mit dem zugesetzten markierten C_{1q} verbanden und dann mit PEG präzipitiert wurden, so daß sie ins Sediment abgeschleudert werden konnten.

Für die Inzidenz von zirkulierenden IK in den unterschiedlichen Gruppen von Patienten mit Lebererkrankungen, so wie sie mit der PEG-Fällungsmethode ermittelt werden konnte, ergab sich das folgende Bild: signifikante Unterschiede zum normalen Kontrollkollektiv fanden sich beim Vergleich ganzer Gruppen auf der Basis absoluter Fällungsprozentsätze beim Kollektiv der akuten, HBs-AG-positiven Hepatitis, der chronisch-aggressiven, HBs-AG-positiven Hepatitis sowie der HBs-AG-negativen und -positiven posthepatitischen Leberzirrhose und der alkoholtoxischen und kryptogenen Leberzirrhose und schließlich auch bei der primären biliären Zirrhose. Daraus läßt sich der Schluß ableiten, daß bei Patienten mit akuter und chronischer, HBs-AG-positiver Hepatitis bishin zu den Übergangsformen in eine Leberzirrhose, aber auch bei Leberzirrhosen anderer Genese mit der PEG-Fällungsmethode gehäuft zirkulierende IK nachgewiesen werden können. In der Einzelauswertung zeigte sich dann auch, daß der Anteil von Patienten mit IK in den folgenden Gruppen besonders hoch war: HBs-AG-positive, chronisch-persistierende Hepatitis (1/3; 33,3 %), HBs-AG-positive, chronisch-aggressive Hepatitis (10/23; 43,4 %), HBs-AG-positive, posthepatitische

Leberzirrhose (17/24; 70,8 %), kryptogene Leberzirrhose (6/9; 66,6 %), primär-biliäre Zirrhose (2/2; 100 %), alkoholtoxische Leberzirrhose (4/21; 19 %). Aber auch in anderen Gruppen kamen Patienten mit einem positiven PEG-Fällungstest vor: posthepatitische, HBs-AG-negative Leberzirrhose (9/17; 52,9 %), Zustand nach HBs-AG-positiver Hepatitis (1/4; 25 %), akute, HBs-AG-positive Hepatitis (3/14; 21,4 %), Zustand nach akuter, HBs-AG-negativer Hepatitis (1/5; 20 %), chronisch-persistierende, HBs-AG-negative Hepatitis (1/5; 20 %) und chronisch-aggressive, HBs-AG-negative Hepatitis (1/12; 8,3 %). Dagegen war der PEG-Fällungstest bei symptomlosen HBs-AG-Trägern und bei allen Patienten mit Leberzirrhose bei Hämochromatose sowie mit Fettleber bzw. Fettleberhepatitis ausnahmslos negativ.

Im folgenden sollen nun die Ergebnisse, die mit der C_{1q}*-Deviations- und der PEG-Fällungsmethode ermittelt wurden, verglichen werden. Dabei soll für jedes Kollektiv die Anzahl der untersuchten Fälle vorausgeschickt werden, die in beiden Testen ein positives bzw. in beiden Testen ein negatives Ergebnis erbracht haben; anschließend sollen die Fälle genannt werden, in denen sich diskrepante Ergebnisse herausstellten: in der Gruppe der 14 Patienten mit akuter Hepatitis B war ein Patient in beiden Testen positiv, 11 reagierten in beiden Testen negativ; ein positives Resultat nur im PEG-Fällungstest ergab sich für 2 Patienten. Bei den 4 Patienten mit Zustand nach HBs-AG-positiver Hepatitis ergab sich in einem Fall ein übereinstimmend positives Ergebnis, in 2 Fällen war das Ergebnis übereinstimmend negativ, in einem weiteren Fall war nur mit der C_{1q}*-Deviationsmethode ein positives Ergebnis erzielt worden. In der Gruppe der 3 Patienten chronisch-persistierender, HBs-AG-positiver Hepatitis reagierte kein Patient mit beiden Testen positiv, 2 hatten übereinstimmend negative Ergebnisse, in einem Fall war nur mit der PEG-Fällungsmethode ein positiver Test zu erhalten. In der Gruppe der 23 Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis war ein übereinstimmend positives Ergebnis nur bei 2 Patienten zu erzielen, 12 waren in beiden Methoden negativ, 7 reagierten nur in der PEG-Fällungsmethode, einer nur in der C_{1q}*-Deviationsmethode positiv; das Serum

eines Patienten wurde ausschließlich mit der PEG-Fällungsmethode auf IK untersucht und reagierte dabei signifikant positiv. Bei den 24 Patienten mit HBs-AG-positiver, posthepatitischer Leberzirrhose reagierten 11 mit beiden Methoden positiv und 5 mit beiden Methoden negativ, dagegen reagierten 2 weitere nur mit der C_{1q}*-Deviationsmethode und sechs weitere nur mit der PEG-Fällungsmethode positiv. Bei den 15 Patienten mit akuter, HBs-AG-negativer Hepatitis waren übereinstimmend positive Ergebnisse überhaupt nicht zu erzielen, in 10 Fällen war das Ergebnis übereinstimmend negativ; bei 5 zusätzlichen Patienten war eine positive Reaktion einzig mit der PEG-Fällungsmethode zu erreichen. Bei den 5 Patienten mit Zustand nach akuter, HBs-AG-negativer Hepatitis waren übereinstimmend positive Ergebnisse ebenfalls nicht zu beobachten, in 4 Fällen war das Ergebnis übereinstimmend negativ, in einem zusätzlichen Fall war ausschließlich mit der PEG-Fällungsmethode ein positives Ergebnis zu beobachten. Bei den 5 Patienten mit chronisch-persistierender, HBs-AG-negativer Hepatitis war in einem Fall ein übereinstimmend positives, in 4 weiteren Fällen ein übereinstimmend negatives Ergebnis festzustellen, diskrepante Beobachtungen wurden nicht erhoben. Bei den 17 Patienten mit HBs-AG-negativer, posthepatitischer Leberzirrhose waren einheitlich positive Ergebnisse in 5 und einheitlich negative Ergebnisse in 8 Fällen zu beobachten, in 4 zusätzlichen Fällen wurde nur mit der PEG-Fällungsmethode ein positives Ergebnis erzielt. Bei den 2 symptomlosen HBs-AG-Trägern war das Ergebnis in beiden Testen einhellig negativ, das traf auch auf die 3 Patienten mit Leberzirrhose bei Hämochromatose und auf 12 der 13 Patienten mit einer Fettleber zu, hier reagierte nur ein Patient, der als Ausnahme zu betrachten ist, einzig im C_{1q}*-Deviationstest positiv. Bei den beiden Patienten mit primär-biliärer Zirrhose war das Ergebnis in beiden Testen einhellig positiv. Bei den 21 Patienten mit alkoholtoxischer Leberzirrhose waren einhellig positive Ergebnisse in 3 und übereinstimmend negative Ergebnisse in 16 Fällen zu beobachten, in je einem weiteren Fall wurde ein positives Ergebnis nur mit einer der beiden Methoden beobachtet. In der Gruppe der 9 Patienten mit kryptogener Leberzirrhose reagierten 3 Patienten einheitlich positiv, 2 übereinstimmend negativ, in einem Fall war nur mit der

C_{1q}*-Deviationsmethode, in 3 Fällen nur mit der PEG-Fällung ein positives Ergebnis zu erzielen.

Betrachtet man nun sämtliche untersuchten Patientenkollektive gemeinsam, so war in 29 Fällen ein übereinstimmend positives Ergebnis mit beiden Methoden festzustellen, während in 100 Fällen die Ergebnisse übereinstimmend negativ waren. Nur in der PEG-Fällungsmethode positiv reagierten 31, nur in der C_{1q}*-Deviationsmethode positiv reagierten 11 Patienten. Damit liegt der Anteil diskrepanter Ergebnisse mit beiden Methoden etwa so hoch wie der Anteil übereinstimmend positiver Ergebnisse. Die Beobachtung, daß etwa dreimal häufiger mit der PEG-Fällungsmethode als mit der C_{1q}*-Deviationsmethode positive Ergebnisse ermittelt wurden, falls die Ergebnisse überhaupt diskrepant waren, läßt sich mit der Beobachtung einer etwas besseren Reproduzierbarkeit, einer dadurch bedingten geringeren Streubreite der Werte in den zwei Kontrollkollektiven und schließlich einer davon abhängigen sensibleren Diskriminierung der Patientenkollektive vom Normalkollektiv erklären. Vor allem aber weisen diese Diskrepanzen daraufhin, daß die Sensibilität beider Teste offensichtlich noch nicht ausreichend ist.

Darüber hinaus aber muß die Spezifität beider Teste an dieser Stelle diskutiert werden, legen unterschiedliche Ergebnisse mit beiden Testen bei ein und demselben Patienten doch nahe zu vermuten, daß mit beiden Testen unterschiedliche Dinge gemessen werden. Korrekterweise muß hier also die Aussage, man weise zirkulierende IK nach, dahingehend abgeschwächt werden, daß es nur heißen kann, mit der C_{1q}*-Deviationsmethode bzw. mit der PEG-Fällungsmethode seien im Probandenserum C_{1q}*-bindende Substanzen nachgewiesen worden, bei denen es sich weder um DNA, noch um Endotoxin handelt und bei denen aufgrund der vom Molekulargewicht wesentlich abhängigen PEG-Präzipitationsfähigkeiten angenommen werden kann, daß es sich um IK handelt. Die Vorstellung, daß es sich bei den nachgewiesenen C_{1q}*-bindenden Substanzen um zirkulierende IK handelt, wird dadurch erheblich unterstützt, daß mit "Modell-IK", wie beispielsweise dem oben angeführten aggregierten IgG zweifelsfrei und konzentrationsabhängig positive Ergebnisse sowohl mit der C_{1q}*-Devia-

tions- wie auch der PEG-Fällungsmethode erzielt werden können. Auch fehlen bislang jegliche Vorstellungen darüber, um welche Substanzen es sich nach Ausschluß von DNA und Endotoxin neben zirkulierenden IK überhaupt noch handeln könnte.

Gerade diese Überlegungen haben qualitative Analysen von PEG-Präzipitaten herausgefordert, um weitere Argumente dafür zu erbringen, daß es sich bei den nachgewiesenen Substanzen mit C_{1q}*-Bindungsfähigkeit um Immunkomplexe handelt, die aus IgG und möglicherweise IgM und - bei den HBs-AG-positiven Patienten - eventuell sogar aus HBs-AG (als AG-Anteil) bestehen. Ein weiterer Näherungsweg zur Charakterisierung der C_{1q}*-bindenden Substanzen, die im C_{1q}*-Deviations- und PEG-Fällungstest ein positives Ergebnis bewirken konnten, ist die Nachuntersuchung von Fraktionen aus untersuchtem Serum nach Säulenchromatographie mit diesen beiden Methoden (C_{1q}*-Deviation und PEG-Fällung). Ginge man nämlich von einem mit diesen beiden Methoden positiv reagierenden Serum aus und fraktionierte es säulenchromatographisch, so müßte eine Untersuchung der Fraktionen, die im Molekulargewichtsbereich von IK läge, eine positive C_{1q}*-Deviation bzw. positive PEG-Fällung in den entsprechenden "gepoolten" und eingeengten Fraktionen erbringen; auch diese Fraktionen könnten dann auf ihren HBs-AG-, IgG- und IgM-Gehalt analysiert werden. - Würden die säulenchromatographischen Untersuchungen (Molekulargewichtsbereich-Differenzierung) und qualitativ analytischen Untersuchungen von säulenchromatographischen Fraktionen und Präzipitaten auf Immunglobuline und gegebenenfalls HBs-AG die Annahme, daß mit der C_{1q}*-Deviations- und der PEG-Fällungsmethode tatsächlich zirkulierende IK nachgewiesen würden, unterstützen, so könnten diese Befunde den oben diskutierten Angaben über die Inzidenz zirkulierender IK in den unterschiedlichen Patientenkollektiven mehr Gewicht verleihen und die noch relativ hohe Anzahl diskrepanter Befunde mit beiden Methoden mehr der Sensibilität als der Spezifität der Methode anlasten. Ergänzend muß in diesem Zusammenhang noch einmal daran erinnert werden, daß aus vielerlei oben dargelegten Gründen, aber auch wegen der noch relativ großen Diskrepanz zwischen beiden Bestimmungsmethoden eine relativ hohe Signifikanzschwelle angesetzt worden war, die mögli-

cherweise eine zu niedrige Inzidenz, d. h. falsch negative Ergebnisse, bewirkt haben könnte.

Eine Unterstützung der Annahme, daß es sich bei den mit PEG aus dem Serum fällbaren C_{1q}*-bindenden Substanzen tatsächlich um IK handelt, ergab die Analyse der mit Polyäthylenglykol aus dem Serum gefällten Substanzen bei 49 Patienten mit verschiedenen Lebererkrankungen und HBs-Antigenämie. Bei 31 der 49 Patienten konnten im"PEG-gefällten" Sediment IgG und HBs-AG gleichzeitig angetroffen werden. Dem stehen 8 Patienten gegenüber, bei denen im Bodensatz weder ein Immunglobulin noch HBs-AG gefunden werden konnte, was vielleicht dadurch verständlich wird, daß es sich in diesen Fällen ausnahmslos um Seren mit sehr geringen PEG-Fällungswerten handelte, deren höchster mit 11,5 % noch innerhalb der doppelten Standardabweichung (2 s) vom Normalkollektiv lag und somit nicht als signifikant positiv gewertet wurde. Es handelte sich dabei also um die unspezifische Fällung, die auch im Normalserum gefunden werden konnte und deren Ursache im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht näher untersucht wurde. Im Bodensatz von 8 weiteren Seren fand sich zumindest IgG. In zwei Fällen war nur HBs-AG, aber kein Immunglobulin nachweisbar. Diese Befunde lassen zwar nur indirekt auf die IK-Natur der mit PEG gefällten Substanzen schließen, sie unterstützen aber aufgrund der großen Regelmäßigkeit des Immunglobulinnachweises im PEG-Sediment diese Annahme. Desweiteren legen die Ergebnisse der Sedimentuntersuchung den Schluß nahe, daß es sich bei den zirkulierenden IK im Serum der Patienten mit HBs-Antigenämie zumindest zum Teil um AG-AK-Komplexe handelt, deren antigener Anteil aus HBs-AG besteht. Auf die Möglichkeit, daß der Antikörperanteil der Komplexe nicht ausschließlich der IgG-Klasse, sondern auch der IgM-Klasse angehört, vor allem dann, wenn ein hoher PEG-Fällungswert auf große Mengen zirkulierender IK im Patientenserum schließen läßt, weisen die Ergebnisse der Sedimentuntersuchung bei den 20 Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Leberzirrhose hin, wo sich bei 8 Patienten IgM zusätzlich zu IgG im Bodensatz nachweisen ließ. Daß bei 2 der 8 Patienten neben einer sehr hohen PEG-Fällungsrate im Serum und den beiden Immunglobulinen im Sediment kein HBs-AG

gefunden werden konnte, unterstreicht die Möglichkeit, daß zirkulierende IK, die bei Leberkranken mit HBs-Antigenämie auftreten, nicht immer HBs-AG als Antigenanteil enthalten müssen. Ferner weisen diese Befunde bei den beiden Fällen, bei denen HBs-AG alleine im "PEG-gefällten" Sediment nachweisbar war, daraufhin, daß es sich weniger um eine - möglicherweise hier in Betracht zu ziehende - "Verunreinigung" des Sediments mit HBs-AG handelte (dann hätte HBs-AG vor allem bei hohem PEG-Fällungswert stets nachweisbar sein müssen), als vielmehr um die Fällung kleiner Komplexe, die zwar noch genügend antigene Determinanten aufwiesen, um einen HBs-AG-Nachweis zuzulassen, die aber zum Gelingen eines Immunglobulinnachweises nicht mehr genügend freie Antikörperdeterminanten besaßen. Die umgekehrte Möglichkeit der Verdeckung von Antigendeterminanten durch die IK-Struktur erscheint im Falle von 8 Patienten mit ausschließlichem Immunglobulinnachweis im Sediment aber ebenso gegeben und erfordert, darüber hinaus eine kritische Betrachtung der oben erörterten Möglichkeit, daß in zirkulierenden IK, die im Rahmen einer Lebererkrankung mit HBs-Antigenämie auftreten, nicht unbedingt HBs-AG involviert ist. Da die Vorversuche eine lineare Proportionalität zwischen dem Ausmaß der PEG-Fällung und Menge zugesetzter "Modell-IK" aus agg. IgG zeigten, wäre auch eine lineare Abhängigkeit des IgG-Gehaltes im Sediment vom Ausmaß der PEG-Fällung zu erwarten gewesen. Diese ließ sich bei den Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Leberzirrhose auch tatsächlich zeigen (siehe Abb. 7). Daß die lineare Proportionalität bei den anderen untersuchten Patientengruppen nicht deutlich war, widerspricht der obigen Interpretation nicht, da bei diesen Gruppen zu wenige hohe PEG-Fällungswerte vorhanden waren, um eine sichere Beurteilung zuzulassen.

Die Untersuchung auf IK mit der säulenchromatographischen Methode wurde bei 10 Seren von Patienten mit verschiedenen Lebererkrankungen bei HBs-Antigenämie durchgeführt, die im C_{1q}^{*}-Deviations- und PEG-Fällungstest durchweg sehr hoch waren. Roberts-Thomson und Mitarb. (49) gaben bei ihren Untersuchungen - sie forschten nach dem Auftreten zirkulierender IK bei Patienten mit rheumatoider Arthritis - an, daß sie schon aus dem Profil der

Extinktionskurve des eluierten Serums bei 280 nm auf die Anwesenheit von zirkulierenden IK schließen konnten. Sie verwiesen dabei auf einen verfrühten Anstieg der optischen Dichte vor dem dritten Gipfel der Extinktionskurve (IgG-Bereich) gegenüber normalem nicht IK-haltigem Serum. Die dem IgG-Gipfel vorausgehende "Nase" wurde als Ausdruck des früher eluierten komplexgebundenen IgG angesehen. Diese "Nase" konnte bei den 10 im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Seren in keinem Fall deutlich gesehen werden. Betrachtet man nun die rechnerischen Äquivalente zu dieser Veränderung des Extinktionsprofils gegenüber einem Normalserum oder Normalserum-"Pool", nämlich das IgG-Commencement und das monomer/dimer-Verhältnis, so ergab sich folgendes Bild: in 4 Fällen trat ein deutlich verfrühtes Commencement auf, in 2 weiteren Fällen konnte der erste IgG-Nachweis nur bis zu zwei Fraktionen (8 ml) früher geführt werden als bei der säulenchromatographischen Trennung von NHS. Da bei 2 weiteren Seren eine Verschiebung des ersten IgG-Nachweises (= IgG-Commencement) bis zu zwei Fraktionen (8 ml) später als bei NHS auftrat, dürfte auch das IgG-Commencement bis zu 8 ml früher zur normalen Streubreite des IgG-Eintreffens gerechnet werden und kann somit nicht als verfrühtes IgG-Commencement gewertet werden. Wird nun zusätzlich zu den 4 Fällen mit eindeutig früherem IgG-Commencement das Verhalten des monomer/dimer-Verhältnisses als zweiter Indikator eventuell vorhandener IK betrachtet, so fanden sich nur zwei Seren, bei denen die beiden Parameter IgG-Commencement und monomer/dimer-Verhältnis von IgG im Sinne von Roberts-Thomson et al. als Hinweis auf zirkulierende IK gewertet werden durften. Da es sich aber bei den chromatographisch getrennten Seren um solche handelte, bei denen vorher mit der C_{1q}*-Deviations- und der PEG-Fällungsmethode vermehrt C_{1q}*-bindende Substanzen - d. h. also IK - nachweisbar gewesen waren, erhebt sich die Frage, ob die verwandte säulenchromatographische Trennungsmethode ohne weiteres von den IK-Untersuchungen bei der Arthritis auf solche bei Lebererkrankungen übertragen werden kann und somit hier geeignet ist. Es ist nämlich nicht ohne weiteres vorauszusetzen, daß zirkulierende IK im Serum von Patienten mit rheumatoider Arthritis (denn darauf bezo-

gen sich die Untersuchungen von Roberts-Thomson et al.) und bei den akuten und chronischen Formen der Hepatitis bis hin zur Leberzirrhose von gleicher Struktur und gleicher Größenordnung des Molekulargewichtes sind und deswegen nach gleichen Mengen von Elutionsvolumen bei der säulenchromatographischen Trennung auftreten, also in einem Bereich von doppeltem Molekulargewicht des IgG (etwa bei 300 000). Wie die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, ist das Vorkommen von zirkulierenden IK mit einem zweifachen Molekulargewicht des IgG, wie sie bei Patienten mit rheumatoider Arthritis gefunden wurden, bei Patienten mit akuten und chronischen Lebererkrankungen durchaus nicht ausgeschlossen, war doch bei 2 der 10 untersuchten Fälle neben einem geringeren IgG-Commencement ein vermindertes monomer/dimer-Verhältnis festzustellen. Der Großteil der auftretenden zirkulierenden IK schien aber ein anderes Molekulargewicht zu besitzen und mußte somit in anderen Elutionsbereichen zu finden sein.

Ging man von der Arbeitshypothese aus, daß zumindest ein Teil der IK, die im Serum von Patienten mit Lebererkrankungen und HBs-Antigenämie auftreten, HBs-AG als Antigenanteil enthält (wie oben beschrieben, wurde diese Annahme durch die Ergebnisse der PEG-Sediment-Analyse entscheidend gestützt), so waren relativ hochmolekulare IK zu erwarten, da das HBs-AG-Partikel oder Bruchstücke davon mit immunologischer HBs-AG-Aktivität ein hohes Molekulargewicht besitzen. In bezug auf die säulenchromatographische Trennung der 10 Patientenseren konnte daher davon ausgegangen werden, daß IK nach einem noch geringeren Elutionsvolumen nachweisbar sein mußten. Direkte Hinweise darauf durch markante, reproduzierbare Veränderungen der optischen Dichte des Eluats in niedrigeren Elutionsvolumenbereichen blieben aber aus, wenn man mit dem Verhalten der optischen Dichte bei Chromatographie von NHS vergleicht.

Daher mußte versucht werden, durch erneute Untersuchung der chromatographisch getrennten Seren mit der C_{1q}*-Deviationsmethode und der PEG-Fällungsmethode den Molekulargewichtsbereich festzustellen, in dem die vorher nachgewiesenen C_{1q}*-bindenden Strukturen wiederaufzufinden waren. Ferner konnte man durch die Unter-

suchung des IgG-, IgM- und HBs-AG-Gehaltes in den entsprechenden Fraktionierungsbereichen erneute Hinweise auf die qualitative IK-Zusammensetzung gewinnen. Es muß an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß diese Untersuchungen auf große methodische Schwierigkeiten stießen: einmal wurde durch die Serumverdünnung beim Elutionsvorgang ein eventueller IK-Spiegel in Konzentrationsbereiche verschoben, in denen sich ein Nachweis mit den angewandten Methoden nicht mehr sicher führen ließ. Daher mußten nach der Trennung Sammelfraktionen (wie oben als "pool 1" bis "pool 6" beschrieben) gebildet und wieder auf ein geringeres Volumen eingeengt werden. Eine Alteration eventuell vorhandener IK ließ sich dabei ebensowenig ausschließen, wie der Verlust besonders großer IK in Filtermembranen oder eine spontane Aggregation von Immunglobulinen durch Veränderungen des Milieus beim Einengungsvorgang. Zum zweiten mußten trotz der Einengung relativ große Volumina aus dem eingeengten Eluat den Ansätzen des C_{1q}*-Deviations- und des PEG-Fällungstests zugesetzt werden, um annähernd reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Wie oben in der Diskussion der Methoden ausgeführt, brachte dies durch eine Änderung der Pufferleitfähigkeit und der Gesamtkonzentration der Ansätze weitere Fehlerquellen mit sich. Die Ergebnisse der "Pool"-Untersuchungen sind daher nur mit Zurückhaltung bewertbar.

Im einzelnen fand sich ein "pool 1" - dem Bereich des vorderen Ausschlusses, wo nur hochmolekulare Substanzen zu erwarten waren ($MG > 2 \times 10^6$) - in einem der 10 Fälle ein übereinstimmender Nachweis von signifikant positiver C_{1q}*-Deviation, signifikant positiver PEG-Fällung, IgG und HBs-AG; bei 3 weiteren Fällen waren eine positive PEG-Fällung, IgM und HBs-AG zugleich im "pool 1" nachweisbar. Im "pool 2", in dem Moleküle mit einem MG von $1{,}8 \times 10^6$ zu erwarten waren, konnte in einem Fall neben dem gemeinsamen Nachweis von IgG, IgM und HBs-AG gleichzeitig auch eine signifikant positive PEG-Fällung gefunden werden. Eine gemeinsame Positivität von PEG-Fällung und IgG fand sich ebenfalls nur in einem Fall im "pool 3", dem Bereich des "frühen" IgG-Nachweises. Im Bereich des Anstiegs der IgG-Konzentration, dem "pool 4", war einmal eine signifikant positive PEG-Fällung gleichzeitig mit einer signifikant positiven C_{1q}*-Deviation und IgG

nachweisbar; in einem weiteren Fall konnte eine signifikante PEG-Fällung zusammen mit IgG und HBs-AG gezeigt werden, während in weiteren zwei Fällen im "pool 4" eine positive PEG-Fällung zusammen mit IgG alleine vorhanden war. Im Molekulargewichtsbereich um 150 000, der im "pool 5" erfaßt war, fand sich einmal eine signifikant positive C_{1q}*-Deviation zusammen mit IgG, und in zwei anderen Fällen war gleichzeitig mit IgG die PEG-Fällung signifikant positiv. Im Molekulargewichtsbereich um 100 000 und darunter den der "pool 6" erfaßte, war einmal die PEG-Fällung zusammen mit dem IgG-Nachweis positiv.

Daß sich diese diskrepanten Befunde nur mühsam interpretieren lassen, ist den oben erwähnten Schwierigkeiten bei Anwendung der C_{1q}*-Deviations- und der PEG-Fällungsmethode auf Serumeluate anzulasten. Hier bedarf es noch weiterer methodischer Anstrengungen, um eine genügende Sensibilität und Spezifität der Teste beim Nachweis von IK in anderen Medien als im dekomplementierten Serum zu erhalten.

Naturgemäß fällt es schwer, Aussagen über das Auftreten und die pathogenetische Rolle von zirkulierenden IK bei akuten und chronischen Lebererkrankungen zu machen, wenn die Sensibilität und vielleicht auch die Spezifität der geprüften Nachweismethoden für zirkulierende IK noch nicht ausreichend sind.

Mit ausreichender Sicherheit ist aber doch die Feststellung möglich, daß das Auftreten im Serum zirkulierender IK bei Patienten mit chronisch-aktiver Hepatitis, vor allem aber mit posthepatitischer Leberzirrhose gehäuft zu beobachten war. Die am besten übereinstimmenden Ergebnisse wurden bei den Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Leberzirrhose, die fast immer auf dem Boden einer chronisch-aggressiven Hepatitis entstanden war, gefunden. Die hohe Übereinstimmung der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung gerade bei dieser Patientengruppe legt den Schluß nahe, daß zirkulierende IK bei Patienten mit posthepatitischer Leberzirrhose nicht nur gehäuft auftreten, sondern wahrscheinlich auch pathogenetisch eine Rolle bei der Entwicklung einer Leberzirrhose aus einer akuten Virushepatitis B spielen

Wie IK-Nachweise bei anderen Gruppen von Leberzirrhosen zeigen, ist aber auch die Möglichkeit einzuräumen, daß IK etwa aus dem Gastrointestinaltrakt als Sekundärerscheinung auftreten, etwa weil das RES der erkrankten Leber die IK nicht so gut aus dem zirkulierenden Blut entfernen kann. Die Möglichkeit, daß es sich bei den Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis und mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Leberzirrhose zumindest zum Teil um IK handelt, deren antigener Bestandteil HBs-AG ist, wird durch die vorliegenden Ergebnisse unterstrichen. Um aber präzisere Aussagen über den Zusammenhang zwischen dem Auftreten und der Zusammensetzung zirkulierender IK bei akuten und chronischen Lebererkrankungen einerseits und dem ursächlichen Einfluß zirkulierender IK auf deren Krankheitsverlauf andererseits machen zu können, müssen noch weitere Daten und Beobachtungen gesammelt und ausgewertet werden.

5.0.0.0. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sollte die Wertigkeit verschiedener Methoden zum Nachweis zirkulierender IK geprüft und das Vorkommen zirkulierender IK bei Patienten mit akuten und chronischen Lebererkrankungen festgestellt werden. Ferner sollten erste Daten über die Zusammensetzung zirkulierender IK und ihre Rolle bei der Pathogenese und im Verlauf akuter und chronischer Leberkrankheiten erarbeitet werden.

Zum Nachweis löslicher IK im Serum wurden die C_{1q}*-Deviationsmethode nach Sobel et al. (52) und die PEG-Fällungsmethode nach Nydegger et al. (42) erarbeitet und weitgehend standardisiert. ^{125}J-C_{1q} bindet sich an zirkulierende dekomplementierte Immunkomplexe und steht somit nicht mehr zur Bindung an sensibilisierte Erythrozyten zur Verfügung oder ist mit Polyäthylenglykoll als ^{125}J-C_{1q}-IK fäll- und meßbar. Anschließend wurde mit den beiden Methoden das Serum von 172 Patienten mit akuten und chronischen Lebererkrankungen untersucht.

Mit der C_{1q}*-Deviationsmethode erhielt man dabei folgende Ergebnisse: bei und nach der akuten, HBs-AG-negativen Hepatitis

waren wie auch bei den gesunden Kontrollpersonen keine IK nachzuweisen. Dagegen hatten 7 % der Patienten mit akuter, HBs-AG-positiver Hepatitis und 50 % der Rekonvaleszenten nach akuter, HBs-AG-positiver Hepatitis IK, während bei symptomlosen HBs-AG-Trägern keine nachweisbar waren. Bei einem der 5 Patienten mit chronisch-persistierender, HBs-AG-negativer Hepatitis, aber keinem der 3 untersuchten Patienten mit chronisch-persistierender, HBs-AG-positiver Hepatitis fanden sich IK im Serum. In 33 % der Fälle mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-negativer und in 14 % der Fälle mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis konnten IK gefunden werden. Bei den Patienten mit Leberzirrhose waren zirkulierende IK nachweisbar, bei 29 % der Kranken mit posthepatitischer, HBs-AG-negativer, 54 % mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver, 44 % mit kryptogener, 19 % mit alkoholtoxischer, 0 % mit Hämochromatose und 100 % der Kranken mit primär-biliärer Zirrhose. In nur einem einzigen Ausnahmefall fanden sich bei den 13 untersuchten Patienten mit Fettleber bzw. Fettleberhepatitis zirkulierende IK.

Bei der Untersuchung der Patientenkollektive mit der PEG-Fällungsmethode ergab sich folgendes Bild: 33 % der Patienten mit akuter, HBs-AG-negativer Hepatitis und 20 % der Rekonvaleszenten nach akuter, HBs-AG-negativer Hepatitis hatten zirkulierende IK im Serum. Bei 21 % der Kranken mit akuter Hepatitis B und 25 % der Rekonvaleszenten nach akuter Hepatitis B fanden sich IK, während bei symptomlosen HBs-AG-Trägern IK nicht nachweisbar waren. Bei den Seren von Patienten mit chronischer Hepatitis wurden in 20 % bei chronisch-persistierender, HBs-AG-negativer, in 33 % bei chronisch-persistierender, HBs-AG-positiver, in 8 % bei chronisch-aggressiver, HBs-AG-negativer und in 43 % bei chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis IK gefunden. Bei den Patienten mit Leberzirrhose zeigten sich zirkulierende IK im Serum in 53 % bei posthepatitischer, HBs-AG-negativer, in 71 % bei posthepatitischer, HBs-AG-positiver, in 67 % bei kryptogener, in 19 % bei alkoholtoxischer, in 0 % bei Hämochromatose und in 100 % bei primär-biliärer Zirrhose. Keiner der 13 untersuchten Kranken mit Fettleber oder Fettleberhepatitis wie auch der Probanden der Kon-

trollkollektive hatten zirkulierende IK im Serum.

Da der C_{1q}*-Deviations- und PEG-Fällungstest bei Anwesenheit von DNA oder Endotoxin im untersuchten Serum falsch-positive Ergebnisse liefern können, wurden 36 Seren mit DNase vorbehandelt, wonach nur ein mal die erhöhte C_{1q}*-Ablenkung aufgehoben wurde, und es wurde Endotoxin mit dem Limulus polyphemus-Test in 15 Fällen ausgeschlossen und nur in 2 Fällen von kryptogener Leberzirrhose nachgewiesen.

Um näheren Aufschluß über die Zusammensetzung zirkulierender IK bei Patienten mit Lebererkrankungen zu gewinnen, wurde das durch PEG aus dem Serum gefällte Sediment von 49 HBs-AG-positiver Patienten mit akuter, chronisch-persistierender und chronisch-aggressiver Hepatitis sowie mit posthepatitischer Leberzirrhose auf den Gehalt an IgG, IgM und HBs-AG geprüft: bei 31 der 49 Patienten konnten IgG und HBs-AG gleichzeitig im Sediment gefunden werden, bei 6 dieser 31 Fälle wurde zusätzlich IgM nachgewiesen. Bei 2 weiteren Patienten fanden sich IgG und IgM ohne HBs-AG im PEG gefällten Serumsediment, 8mal waren nur IgG bzw. 2mal nur HBs-AG nachweisbar. Nur bei 8 der 49 Fälle konnte weder ein Immunglobulin noch HBs-AG bei der Sedimentuntersuchung gezeigt werden. Da es sich bei letzteren ausnahmslos um Fälle handelte, die keine zirkulierenden IK im Serum hatten, legten die Ergebnisse der Sedimentuntersuchung den Schluß nahe, daß es sich bei den zirkulierenden IK, die bei akuten und chronischen Lebererkrankungen mit HBs-Antigenämie auftreten, um Komplexe handelt, deren antigener Bestandteil das HBs-AG ist und deren Antikörperbestandteile meist der Immunglobulinklasse G, mitunter auch der Immunglobulinklasse M angehören.

In Anlehnung an Roberts-Thomson et al. (49) wurde eine säulenchromatographische Methode zum Nachweis zirkulierender IK durch ihr Molekulargewicht, das größer als das von IgG ist, angewendet, um weitere Daten über zirkulierende IK bei Lebererkrankungen zu gewinnen. Es wurden 1o verschiedene Seren (1 Patient mit akuter, HBs-AG-positiver, 3 Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis, 6 Patienten mit HBs-AG-positiver, posthepatitischer Leberzirrhose), die im C_{1q}*-Deviations- und

PEG-Fällungstest positiv reagiert hatten, säulenchromatographisch getrennt. Das Commencement und monomer/dimer-Verhältnis von IgG wurden bestimmt: dabei zeigte sich, daß nur in 2 Fällen durch verfrühtes IgG-Commencement und erniedrigtes monomer/dimer-Verhältnis IK im Serum erkennbar wurden, die etwa das doppelte Molekulargewicht von IgG besaßen.

Die säulenchromatographische Trennung von Seren, die aufgrund der Ergebnisse mit der C_{1q}*-Deviationsmethode und der PEG-Fällungsmethode zirkulierende IK enthielten, bot die Möglichkeit nachzuprüfen, in welchem Molekulargewichtsbereich die nachgewiesenen Komplexe eluiert wurden. 10 fraktionierte Patientenseren wurden darum in 6 verschiedenen Molekulargewichtsbereichen "gepoolt", eingeengt, dann erneut mit der C_{1q}*-Deviations- und der PEG-Fällungsmethode auf ihren IK-Gehalt sowie parallel dazu auf den Gehalt von IgM, IgG und HBs-AG untersucht, um eventuell Hinweise auf die Zusammensetzung der IK zu bekommen. Die dabei erhaltenen Aufschlüsse blieben aber weit hinter den Erwartungen zurück. Es erwies sich nämlich als methodisch äußerst schwierig, mit der C_{1q}*-Deviationsmethode und der PEG-Fällungsmethode zirkulierende IK in anderen Medien als in dekomplementierten Seren nachzuweisen.

Ein abschließender Vergleich der Ergebnisse, die mit der C_{1q}*-Deviationsmethode im Einzelserum ermittelt wurden, mit den Resultaten der PEG-Fällungsmethode im Einzelserum, ergab bei 100 von 171 Patienten mit verschiedenen Lebererkrankungen gleichlautende negative, bei 29 übereinstimmend positive Resultate mit beiden Methoden. In 31 Fällen war aber nur mit der PEG-Fällungsmethode, in 11 anderen Fällen allein mit der C_{1q}*-Deviationsmethode ein Nachweis zirkulierender IK im Serum zu führen. Diese Diskrepanz weist daraufhin, daß zumindest die Sensibilität, wahrscheinlich aber auch die Spezifität beider Methoden noch nicht ganz aussreichend sind. Veröffentlichte Ergebnisse anderer Autoren, die mit jeweils nur einer Methode erarbeitet wurden, erscheinen danach in kritischerem Licht.

Mit der eben gemachten Einschränkung konnte gezeigt werden, daß zirkulierende IK im Serum von Patienten mit akuter Virus-

hepatitis vereinzelt, bei Patienten mit chronisch-aggressiver Hepatitis häufiger und bei Patienten mit posthepatitischer Leberzirrhose besonders oft auftreten. In der Tendenz stehen diese Ergebnisse auch im Einklang mit den Resultaten anderer Untersucher. Sie lassen eine Beeinflussung von Pathogenese und Verlauf der akuten Virushepatitis und ihrer chronischen Formen durch zirkulierende IK vermuten.
Es bedarf aber noch weiterer Untersuchungen, um präzisere Auskunft über den Wirkungsmechanismus zirkulierender IK bei der Pathogenese akuter und chronischer Lebererkrankungen geben zu können.

6.0.0.0. Literatur

1. Alpert, E., R. L. Coston, P. H. Schur:
Arthritis associated with hepatitis: complement component studies.
Arthr. Rheum. 13, 303 (1970).

2. Alpert, E., K. J. Isselbacher, P. H. Schur:
The pathogenesis of arthritis associated with viral hepatitis.
New Engl. J. Med. 285, 185 (1971).

3. Agnello, V., R. J. Winchester, H. G. Kunkel:
Precipitin reactions of the C_{1q}-component of complexes in gel diffusion.
Immunology 19, 909 (1970).

4. Almeida, J. D., A. P. Waterson:
Immune complexes in hepatitis.
Lancet 1969 ii, p. 983

5. Blumberg, B. S.:
Polymorphisms of serum proteins and development of isoprecipitins in transfused patients.
Bull. N. Y. Acad. Med. 40, 377 (1964).

6. Blumberg, B. S., L. Melartin, R. A. Guinto, B. Werner:
Family studies of a human serum isoantigen system (Australia antigen).
Amer. J. Hum. Genet. 18, 594 (1966).

7. Blumberg, B. S., J. S. Friedländer, A. Woodside, A. J. Sutnick, W. T. London:
Hepatitis and Australia antigen. Autosomal recessive inheretance of susceptibility of infection in humans.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 62, 11 08 (1969).

8. Bundschuh, G., B. Schneeweiß:
Immunologie.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart - New York (1976).

9. Brzosko, W. J., K. Krawaczynski, T. Nazarewicz, M. Morzycka, A. Nowoslawski:
Glomerulonephritis associated with hepatitis B-surface antigen immunocomplexes in children.
Lancet 1974 ii, p. 478.

10. Chandra, R. K.:
Indian childhood cirrhosis: genealogic data, alpha-feto-protein, hepatitis antigen and circulating immune complexes.
Transact. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 70, 296 (1976).

11. Combes, B., P. Stastny, J. Shorey, E. H. Eigenbrodt, A. Barrera, A. R. Hull, N. W. Carter:
Glomerulonephritis with deposition of Australia antigen-antibody complexes in glomerular basement membrane.
Lancet 1971 ii, p. 234.

12. Creighton, D. W., P. H. Lambert, P. A. Miescher:
Detection of antibodies and soluble antigen-antibody complexes by precipitation with polyethylene glycol.
J. Immunol. 111, 1219 (1973).

13. Dixon, F. J., J. J. Vasquez, W. O. Weigle, C. G. Cochrane:
Pathogenesis of serum sickness.
Arch. Path. 65, 18 (1958).

14. Dixon, F. J., J. D. Feldmann, J. J. Vasquez:
Experimental glomerulonephritis. The pathogenesis of a laboratory model ressembling the spectrum of human glomerulonephritis.
J. Exp. Med. 113, 899 (1961).

15. Dixon, F. J.:
Glomerulonephritis and immune pathology.
In: Immunebiology.
Ed. by Good, R. A. and Fisher, D. W.
Sinauer Associat. Ine., Stanford, Conn., USA (1971).

16. Germuth, F. G.:
A comparative and immunologic study in rabbits of induced hypersensitivity of the serum sickness type.
J. Exp. Med. 97, 257 (1953).

17. Germuth, F. G., C. Flanagon, M. R. Montenegro:
The relationship between the chemical nature of the antigen, antigen dosage, rate of antibody synthesis and occurrence of arteriitis and glomerulonephritis in experimental hypersensitivity.
Bull. Johns Hopkin's Hosp. 101, 149 (1957).

18. Gocke, J. D., K. Hsu, C. Morgan, S. Bombardieri, M. Lockshin, C. L. Christian:
Association between polyarteriitis and Australia antigen.
Lancet 1970 ii, p. 1149.

19. Graves, R. J.:
A system of clinical medicine.
Fannin and Company, Dublin 1843, p. 564.

20. Groote de, J., V. J. Desmet, P. Gedigk, G. Korb, H. Popper, H. Poulsen, P. J. Scheuer, M. Schmid, H. Thaler, E. Uehlinger, W. Wepler:
A classification of chronic hepatitis.
Lancet 1968 ii, p. 626.

21. Harbeck, R. J., R. J. Carr:
DNA-Anti-DNA complexes in sera of patients with systemic lupus erythematosus.
Fed. Proc. 31, 765 (1972).

22. Haupt, H., N. Heimburger:
Humanserumproteine mit hoher Affinität zu Carboxymethylcellulose I.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 353, 1125 (1972).

23. Hedberg, H.:
Studies on depressed haemolytic complement activity of synovial fluid in adult rheumatoid arthritis.
Acta Rheumatol. Scand. 9, 165 (1963).

24. Heusser, Ch., M. Boesman, J. H. Nordin, H. Isliker:
Effect of chemical and enzymatic radioiodination on in vitro human C_{1q}-activities.
J. Immunol. 110, 820 (1973).

25. Hütteroth, T., U. H. Meyer zum Büschenfelde:
Immune complexes in chronic active hepatitis.
Digestion 14, 521 (1976).

26. Humphrey, H. J., R. G. White:
Immunologie.
2. Aufl. (1972), Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

27. Jewell, D. P., J. C. M. McLennan:
Circulating immune complexes in inflammatory bowel disease.
Clin. Exp. Immunol. 14, 219 (1973).

28. Kater, L., L. H. M. van Gorp, E. Borst-Eilers:
Hepatitis: intrahepatic expression of Au-Antigen and immune complexes in liver tissue.
Vox sang. 24, 27 (1973).

29. Koffler, D., P. H. Schur, H. G. Kunkel:
Immunological studies concerning the nephritis of systemic lupus erythematosus.
J. Exp. Med. 126, 607 (1967).

30. Krishnan, C., M. H. Kaplan:
Immunpathologic studies of systemic lupus erythematosus. II. Antinuclear reaction of δ-globulin eluted from homogenated and isolated glomeruli of kidneys from patients with lupus nephritis.
J. Clin. Invest. 46, 569 (1967).

31. Kunkel, H. G., H. J. Müller-Eberhard, H. H. Fudenberg, T. B. Tomasi:
Gammaglobulin complexes in rheumatoid arthritis and certain other conditions.
J. Clin. Invest. 40, 117 (1960).

32. Madalinkski, K., A. Sztachelska-Budkowska, W. J. Brzosko:
DEAE-cellulose chromatography: a method for dissociation of soluble immune complexes of hepatitis B-antigen.
J. Infect. Dis. 129, 371 (1974).

33. Marner, J.-L.:
The relation between hepatitis and polyarthritis.
In: Rheumatic diseases.
Ed.: W. B. Saunders Company, Philadelphia (1952), p. 237.

34. Martini, G. A., G. Strohmeyer, C. P. Sodomann:
Die Panarteriitis nodosa bei chronischer Hepatitis mit Australia-Antigen-Nachweis.
Dtsch. med. Wschr. 97, 642 (1972).

35. Mayer, M. M.:
In: Kabat and Mayer's Experimental Immunochemistry.
2nd edition, Charles C. Thomas, Publisher, Springfield, Illinois, USA (1961), p. 149.

36. Milgrom, F., W. A. Campbell, G. A. Andres:
Antigen in immune complex nephritis.
Immunology 30, 277 (1976).

37. Milmann, J., W. T. London, A. J. Sutnick, B. S. Blumberg:
Australia-antigen-antibody complexes.
Nature 226, 83 (1970).

38. Mirick, G. S., R. E. Shank:
An epidemic of serum hepatitis studied under controlled conditions.
Am. Clin. Climat. Assoc. 71, 176 (1959).

39. Mowbray, J. F., A. V. Hoffbrand, E. J. Holborow, P. P. Seah, L. Fry:
Circulating immune complexes in dermatitis herpetiformis.
Lancet 1973 i, p. 400.

40. Mowrey, F. H., E. Lundberg:
The clinical manifestation of essential polyangiitis (periarteriitis nodosa), with emphasis on the hepatic manifestation.
Ann. intern. Med. 40, 1145 (1954).

41. Nowoslawski, A., K. Krawaczynski, W. J. Brzosko, K. Madalinski:
Tissue localisation of Australia-antigen immune complexes and chronic hepatitis and liver cirrhosis.
Am. J. Path. 68, 31 (1972).

42. Nydegger, U. E., P. H. Lambert, H. Gerber, P. A. Miescher:
Circulating immune complexes in the serum in systemic lupus erythematosus and carriers of hepatitis B-antigen.
J. Clin. Invest. 54, 297 (1974).

43. Onion, K. D., C. S. Crumpacker, B. C. Gilliland:
Arthritis of hepatitis associated with Australia-antigen.
Ann. Int. Med. 75, 29 (1971).

44. Ouyewotu, J. J., E. J. Holborow, G. D. Johnson:
Detection and radioassay of soluble circulating immune complexes using guinea pig peritoneal exsudate cells.
Nature 248, 156 (1974).

45. Poronetto, F., D. Koffler:
Immunofluorescent localization of immunoglobulins, complement and fibrinogen in human diseases. I. Systemic lupus erythematosus.
J. Clin. Invest. 44, 1657 (1965).

46. Prier, E. J., H. Friedmann:
Australia antigen.
University Park Press, Baltimore, London, Tokyo (1973).

47. Prince, A. M., C. Trépo:
Role of immune complexes involving SH-antigen in pathogenesis of chronic active hepatitis and polyarteriitis nodosa.
Lancet 1971 ii, p. 1309.

48. Reploh, H., H. J. Otte:
Medizinische Mikrobiologie.
3. Aufl., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1968).

49. Roberts-Thomson, P. J., B. L. Hazlemann, I. G. Barnett, J. C. M. McLennan, A. G. Movat:
Factors relating to circulating immune complexes in rheumatoid arthritis.
Persönliche Mitteilung (preprint freundlicherweise überlassen)

50. Schur, P. H., J. Sanderson:
Immunologic factors and clinical activity in systemic lupus erythematosus.
New Engl. J. Med. 278, 533 (1968).

51. Shulman, N. R., L. F. Barker:
Virus-like antigen, antibody and antigen-antibody-complexes in hepatitis measured by complement fixation.
Science 165, 304 (1969).

52. Sobel, A. T., V. A. Bokish, H. J. Müller-Eberhard:
C_{1q}-deviation test for the detection of immune complexes, aggregates of IgG and bacterial products in human serum.
J. Exp. Med. 142, 139 (1975).

53. Tan, E. M., P. H. Schur, R. J. Carr, H. G. Kunkel:
Desoxyribonuleic acid (DNA) and antibodies to DNA in serum of patients with systemic lupus erythematosus.
J. Clin. Invest. 45, 1732 (1966).

54. Theophilopoulos, A. N., C. B. Wilson, V. A. Bokish, F. J. Dixon:
Binding of soluble immune complexes to human lymphoblastoid cells.
J. Exp. Med. 140, 1230 (1974).

55. Theophilopoulos, A. N., C. B. Wilson, F. J. Dixon:
The Raji-cell radioimmune assay for detecting immune complexes in human sera.
J. Clin. Invest. 57, 169 (1976).

56. Trépo, C. G., J. Thivolet:
Hepatitis associated antigen and periarteriitis nodosa.
Vox sang. 19, 410 (1970).

57. Trépo, C. G., D. Robert, J. Motin, D. Trépo, M. Sepetijan, A. M. Prince:
Hepatitis B-antigen (HBs-AG) and/or antibodies (anti-HBs and anti-HBc) in fulminant hepatitis: pathogenetic and prognostic significance.
J. Brit. Soc. Gastroent. - GUT 17, 10 (1976).

58. Vorländer, K. O.:
Praxis der Immunologie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1976).

59. Wands, J. R., E. Mann, E. Alpert, K. J. Isselbacher:
The pathogenesis of arthritis associated with acute hepatitis B-surface antigen positive hepatitis.
J. Clin. Invest. 55, 930 (1975).

60. Weir, D. M.:
Handbook of experimental immunology.
Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinborough (1967).

61. Williams, C. A., M. W. Chase:
Methods in immunology and immunochemistry.
Academic Press, New York, USA, Vol. I (1967).

62. Winchester, R. J., V. Agnello, H. G. Kunkel:
Association between the gammaglobulin complexes and complement depletion in joint fluids of patients with rheumatoid arthritis.
Arthr. Rheum. 12, 343 (1969).

63. Winchester, R. J., H. G. Kunkel, V. Agnello:
Occurrence of gammaglobulin in complexes in serum and joint fluid of rheumatoid arthritis patients. Use of monoclonal rheumatoid factors as reagents for their demonstration.
J. Exp. Med. 134, 286 (1971).

7.0.0.0. Anhang

Abkürzungen, die im Anhang verwendet wurden:

aH	=	akute Hepatitis
Z.n.aH	=	Zustand nach akuter Hepatitis
cpH	=	chronisch-persistierende Hepatitis
caH	=	chronisch-aggressive Hepatitis
phLC	=	posthepatitische Lebercirrhose
kry.LC	=	kryptogene Lebercirrhose
alk.LC	=	alkohol-toxische Lebercirrhose
LC b. HC	=	Lebercirrhose bei Hämochromatose
PBC	=	primär-biliäre Lebercirrhose
FL	=	Fettleber bzw. Fettleberhepatitis
GT	=	gesunde HBs-AG-Träger

I. Tabellen

Tab. 1 : Klinische, laborchemische und histopathologische Daten sowie Ergebnisse im C_{1q}+ - Deviations- und PEG - Fällungstest (Mittelwerte aus je zwei Einzelbestimmungen) von 15 Patienten mit akuter HB_s AG - negativer Hepatitis." ges. " = histologisch gesichert, " LAP " = laparoskopisch gesichert

Name	Alter	Geschl.	Bil	SGOT/SGPT	γGT	γGlob.	IgG	IgA	IgM	histo-logisch	PEG-Fällung in %	C_{1q}+ - Deviation in %
P.,H.J.	19 J	♂	3,8	174/222	154	1870				ges.	13,8	18,6
P.,K.	49 J	♂	1,6	80/185	71	1830				ges.	16,6	19,2
J.,G.	17 J	♂	6,6	1320/1325	67	1820				ges.	31,8	17,4
G.,E.	67 J	♂	8,4	393/159	480	1820				ges.	7,3	12,2
H.,H.	25 J	♂	8,0	342/690	74	2380				ges.	29,8	13,5
B.,H.	63 J	♀	1,9	18/64	468	1115				n.d.	5,8	0
H.,P.	15 J	♀	0,9	34/53	85	1008				ges.	6,1	6,2
S.,S.	30 J	♀		585/330	5	1325				ges.	3,6	3,5
S.,R.	22 J	♂		181/320	142					ges.	4,1	9,2
S.,A.	28 J	♀		28/54	72		2035	275	135	ges.	8,4	2,6
R.,J.	24 J	♂		77/133	33		1735	220	185	LAP	5,4	0
K.,F.	45 J	♂		34/63	40		1510	135	180	n.d.	6,8	21,8
D.,B.	32 J	♀		10/13	15					ges.	3,4	23,2
Z.,W.	44 J	♂		47/62	500		2615	255	210	ges.	5,1	17,0
K.,W.	42 J	♀		11/5	17		1375	175	225	ges.	13,9	1,3

Tab. 2 : Klinische, laborchemische und histopathologische Daten sowie Ergebnisse im C_{1q}+ - Deviations- und PEG - Fällungstest (Mittelwerte aus je 2 getrennten Einzelbestimmungen) von 14 Patienten mit akuter, HB_s - AG - positiver Hepatitis. " ges. " = histologisch gesichert

Name	Alter	Geschl.	Bil	SGOT/SGPT	γGT	γ Glob.	IgG	IgA	IgM	histo-logisch	PEG-Fällung in %	C_{1q}+ - Deviation in %
S.,B.	24 J	♂	3,0	474/543	153	1350				ges.	5,3	11,6
B.,J.	71 J	♂	2,7	55/57	62	1865				ges.	9,9	23,6
M.,K.	26 J	♀	9,0	336/558	33	1395				ges.	6,2	7,6
S.,E.	24 J	♀	6,1	920/1180	97	1430				ges.	13,7	13,4
H.,A.	40 J	♀	5,2	348/366	27	1595				ges.	8,6	2,9
E.,E.	30 J	♂	1,9	180/348	141	1460				ges.	7,9	5,7
C.,G.	20 J	♂	7,3	342/516	54	1195				ges.	6,2	1,2
P.,B.	22 J	♂	10,9	555/675	118	1830				ges.	14,3	23,6
Z.,M.	27 J	♀		62/114	35		2700	200	200	ges.	8,0	14,3
F.,S.	17 J	♀		121/148	33		3700	240	115	ges.	18,7	34,1
P.,M.	24 J	♂		20/32	18		1585	185	100	ges.	5,5	0
B.,G.	63 J	♀		28/29	51					ges.	9,7	3,1
J.,J.	39 J	♂		54/112	88		1960	195	210	ges.	6,8	15,5
S.,C.	22 J	♂		21/52	28		1660	220	165	ges.	7,0	6,7

Tab. 3 : Klinische, laborchemische und histopathologische Daten sowie Ergebnisse im C_{1q} + -Deviations- und PEG - Fällungstest (Mittelwert aus je 2 getrennten Einzelbestimmungen) von 12 Patienten mit chronisch - aggressiver, HB_s AG - negativer Hepatitis. " ges. "= histologisch gesichert

Name	Alter	Geschl.	Bil.	SGOT/ SGPT	γGT	γGlob.	IgG	IgA	IgM	histologisch	PEG-Fällung in %	C_{1q}- Dev. in %
Z.,E.	70 J	♀	2,6	15/8	294	1835				ges.	10,6	22,3
S.,A.	63 J	♀	0,7	13/80	64	1685				ges.	7,8	15,5
S.,A.	54 J	♀	0,5	10/5		1385				ges.	7,9	3
W.,A.	68 J	♀	1,2	12/5	18	1320				ges.	10,1	5
S.,K.	59 J	♂	0,9	45/57	134	1415				ges.	6,1	12,7
S.,A.	64 J	♀		57/93	27		2035	290	115	ges.	4,2	29
M.,K.	26 J	♂		29/38	16		1310	205	80	ges.	5,5	6,6
H.,E.	50 J	♀		44/59	18		1870	155	245	ges.	9,6	24,6
W.,U.	53 J	♀		49/64	130		2035	315	155	ges.	7,9	31,7
M.,Ch.	64 J	♂		52/112	54					ges.	8,5	17,4
L.,E.	68 J	♀		78/97	158		2615	290	220	ges.	11,7	73,7
M.,H.	55 J	♀		39/34	35		1810	195	180	ges.	32	18,3

Tab. 4 :

Klinische, laborchemische und histopathologische Daten sowie Ergebnisse in $C_1^{\rightarrow}q$ - Deviations - und PEG - Fällungstest (Mittelwerte aus je zwei Einzelbestimmungen) von 23 Patienten mit chronisch-aggressiver , HB_s AG - positiver Hepatitis ," ges. "= histologisch gesichert;

Name	Alter	Geschl	Bil.	SGOT SGPT	γGT	γGlob.	IgG	IgA	IgM	histologisch	PEG-Fällung (in %)	$C_1^{\rightarrow}q$-Deviat. (in %)
K.E.	48 J	♀	11,2	55/39	57o	2o95				ges.	9,4	3o,3
H.J.	77 J	♂	1,1	131/122	1o2	2365				ges.	85,6	22,3
C.L.	65 J	♀	o,5	35/23	16	1o2o				ges.	5,3	7,4
H.W.	6o J	♂	o,5	22/22	32	1335				ges.	15,3	8,2
K.R.	65 J	♀	2,6	18/5	37	237o				ges.	47,7	34,7
P.W.	6o J	♀	1,1	21/23	41	1855				ges.	6,6	5,5
P.K.	36 J	♀		13/7	11		1585	315	365	ges.	36,9	32,4
H.H.	6o J	♀		38/49	29		1735	395	18o	ges.	15,o	1o,4
K.HW.	38 J	♂		26/34	22		1445	275	7o	ges.	5,2	O
K.J.	33 J	♀		12/8	9		118o	8o	155	ges.	5,4	4,1
S.G.	25 J	♂		4o/56	645		1o5o	178	12o	ges.	5,7	2,4
S.H.	64 J	♂		11/9	54		196o	41o	27o	ges.	11,3	21,5
S.E.	65 J	♂		59/84	69					ges.	6,7	21,9
G.HW.	32 J	♂		66/85	34					ges.	17,4	21,9
K.R.	21 J	♂		43/65	32		131o	265	165	ges.	5,7	4,3
S.E.	56 J	♀		165/143	133					ges.	9o,o	n.b.
Q.H.	7o J	♂		15o/21o	92		2o35	275	155	ges.	9,o	2o,o
N.F.	64 J	♂		166/1oo	34		181o	24o	18o	ges.	7,o	7,8
K.P.	31 J	♂		8/6	17					ges.	6,9	17,2
B.E.	55 J	♀		79/66	57		211o	155	2oo	ges.	52,3	23,4
S.K.	42 J	♀		22/16	31		2525	39o	23o	ges.	33,6	14,7
B.G.	26 J	♀		14/7	13		166o	185	15o	ges.	8,9	13,1
H.H.	69 J	♂		11/7	22		196o	255	255	ges.	27,8	17,8

Tab. 5: Klinische, laborchemische und histopathologische Daten sowie Ergebnisse im C_{1q}+-Deviations- und PEG - Fällungstest (Mittelwert aus je zwei Einzelbestimmungen) von 3 Patienten mit chronisch - persistierender, HB_s AG - positiver Hepatitis (oben) und 5 Patienten mit chronisch - persistierender, HB_s AG - negativer Hepatitis (unten) ,
" ges. " = histologisch gesichert.

Name	Alter	Geschl	Bil.	SGOT/ SGPT	γGT	γGlob	IgG	IgA	IgM	histologisch	PEG-Fällung in %	C_{1q}+-Deviat. in %
P.,H.	36 J	♂	0,6	12/12	27	1130				ges.	10,6	5,8
R.,U.	50 J	♀		22/28	19					ges.	14	8,3
M.,W.	68 J	♂		15/16	14		1810	265	60	ges.	5,5	3,5

Name	Alter	Geschl	Bil.	SGOT/ SGPT	γGT	γGlob	IgG	IgA	IgM	histologisch	in % PEG-Fällung	C_{1q}+-Deviat. in %
B.,G.	53 J	♀	0,5	30/33	16	1675				ges.	6,4	10
S.,A.	68 J	♂	0,6	8/6	16	1330				ges.	8,3	13,1
R.,K.	57 J	♂		23/25	11		1570	230	65	ges.	4,5	0
L.,W.	42 J	♂		18/12	21		1585	155	100	ges.	6,1	8,5
B.,B.	24 J	♀		23/43	26		1960	205	155	ges.	22,1	55,4

Tab. 6 : Klinische, laborchemische und histopathologische Daten sowie Ergebnisse im C_{1q}+ - Deviations- und PEG- Fällungstest (Mittelwert aus je zwei Einzelbestimmungen) von 17 Patienten mit posthepatitischer, Hb_sAG - negativer Leberzirrhose.
" ges. " = histologisch gesichert; " LAP " = laparoskopisch gesichert.

Name	Alter	Geschl.	Bil.	SGOT/SGPT	γGT	γ-Glob.	IgG	IgA	IgM	histologisch	PEG-Fällung in %	C_{1q}+-Deviation in %
C.,H.	59 J	♂	2,0	21/6	18	2300				ges.	3,7	9,4
P.,B.	54 J	♀	1,2	42/18	53	3135				ges.	28,6	19,3
A.,H.	77 J	♀	1,5	5/5	20	2470				ges.	42,1	43,6
K.,R.	48 J	♂	2,3	7/5	18	1460				LAP	12,4	9,6
A.,R.	47 J	♀	0,9	5/10	9	975				ges.	9	13,5
K.,E.	73 J	♀	4,0	18/13	11	1600				ges.	12,4	39,8
H.,T.	35 J	♀	0,5	16/8	71	1255				ges.	6,8	3,7
W.,H.	44 J	♀		65/61	106		3070	330	355	LAP	17,7	58,2
H.,D.	69 J	♀		12/6	15					ges.	3,9	0
W.,G.	71 J	♂		20/22	55		2195	155	140	ges.	15,2	52
B.,G.	66 J	♂		43/11	24		1660	155	200	ges.	6,3	0
K.,R.	62 J	♂		11/8	30		1445	175	135	ges.	17,7	4,1
D.,R.	51 J	♀		13/7	22		1870	355	200	ges.	8,8	5,8
G.,E.	52 J	♀		15/11	43		2035	370	225	ges.	16,8	7,1
R.,E.	67 J	♂		20/14	38		1960	275	110	ges.	7,8	21,1
M.,P.	56 J	♀		164/134	89		4215	300	345	ges.	60,0	83,1
S.,K.	50 J	♂		19/18			1180	145	210	LAP	5,2	1,7

Tab. 7 : Klinische, laborchemische und histopathologische Daten sowie Ergebnisse im C_1^* q- Deviations- und PEG-Fällungstest (Mittelwerte aus je zwei Einzelbestimmungen) von 24 Patienten mit posthepatitischer, HB_s AG- positiver Leberzirrhose.

" ges. " = histologisch gesichert ; " LAP " = laparoskopisch gesichert

Name	Alter	Geschl	Bil	SGOT/ SGPT	γ GT	γ Glob	IgG	IgA	IgM	histologisch	PEG-Fällung in %	C_1^* q-Deviat. in %
S.,H.	54 J	♂	o,°	6o/6°	43	156o				ges.	1o,7	12,8
E.,G.	63 J	♂	4,8	31/1o	44	36°5				ges.	7°,6	64,1
B.,G.	43 J	♂	2,4	22/1o	11	4475				ges.	66,7	2,7
R.,E.	67 J	♀	o,5	4°/93	58	261o				ges.	23,°	1°,1
K.,U.	23 J	♀		4°/16	1°		21°5	165	7oo	LAP	7,°	2°,6
P.,H.	41 J	♀		1o1/12	173		227o	53o	365	ges.	83,5	14,1
B.,K.	61 J	♂		57/51	163		324o	455	185	LAP	82,7	55,°
A.,M.	63 J	♀		89/17	72		3o7o	44o	25o	ges.	4°,°	0
D.,W.	53 J	♂		5o/52	74		354o	615	155	ges.	5o,8	29,3
S.,P.	75 J	♂		62/41	74		196o	22o	365	ges.	2°,3	35,6
F.,E.	37 J	♀		75/95	47		3o7o	18o	43o	ges.	93,o	47,5
E.,H.	64 J	♂		31/15	56					ges.	61,5	2°,o
B.,E.	65 J	♂		2o/19	4o					ges.	6,8	°
S.,E.	4o J	♂		119/57	145		324o	1o6o	115	ges.	15,5	15,1
P.,K.	52 J	♂		32/43	7°		324o	615	18o	ges.	3o,6	32,°
K.,CH.	46 J	♀		14o/71	3oo		87o	24o	385	ges.	26,°	5,2
E.,M.	62 J	♀		1o3/7°	5°		354o	24o	155	ges.	51	3°
S.,A.	52 J	♂		36/16	31					LAP	1o,7	33,6
K.,M.	61 J	♀		°/1o	35		131o	275	41o	ges.	°	2o
H.,W.	54 J	♂		81/3°	46		227o	565	2oo	LAP	2o,8	26,6
H.,H.	47 J	♂		1o2/65	32		27oo	485	3oo	ges.	5o	34,°
K.,B.	51 J	♂		1o/11	21					ges.	12,3	5,4
L.,E.	51 J	♀		39/41	22		2525	5oo	14o	ges.	5,6	4,8
M.,K.	52 J	♂		38/28	42		315o	165o	27o	ges.	14,5	34,3

Tab. 8 : Klinische, laborchemische und histologische Daten sowie Ergebnisse im C_{1q}+- Deviations- und PEG- Fällungstest (Mittelwerte aus je zwei Einzelbestimmungen) von 21 Patienten mit alkohol-toxischer Leberzirrhose . " ges. " = histologisch gesichert.

Name	Alter	Geschl.	Bil.	SGOT/ SGPT	γGT	γGlob.	IgG	IgA	IgM	histolog.	PEG-Fällung in %	C_{1q}+- Dev. in %
L.,L.	54 J	♂	6,0	41/10	660	3185				ges.	31,3	32,8
M.,O.	68 J	♂	2,4	14/7	32	1660				ges.	9,8	10,0
T.,R.	74 J	♂	0,8	8/5	76	1155				ges.	3,6	0
O.,W.	42 J	♂	0,4	7/6	90	1320				ges.	10,9	0
P.,F.	67 J	♂	0,8	27/31	111	1590				ges.	5,7	38,0
W.,K.	64 J	♀	5,4	37/10	27	2535				ges.	38,0	28,2
M.,H.	69 J	♂	2,9	11/8						ges.	31,3	33,2
S.,B.	45 J	♀	0,7	20/8	171	1635				ges.	7,8	8,1
W.,H.	49 J	♂	2,2	93/23	382	1580				ges.	9,1	6,6
K.,W.	36 J	♂	1,2	25/10	150	1490				ges.	9,7	6,4
S.,H.	38 J	♂	2,3	32/15	257	2610				ges.	17,6	14,0
R.,O.	43 J	♂	0,7	5/8	23	975				ges.	6,7	0
K.,H.	46 J	♂	0,7	9/6	85	1790				ges.	8,0	15,6
S.,G.	38 J	♂	0,9	18/7	67	1035				ges.	7,1	8,9
D.,H.	56 J	♂	1,2	26/5	13	1950				ges.	8,5	1,2
O.,K.	45 J	♂	0,8	19/10	16	1750				ges.	8,2	1,5
P.,M.	47 J	♀	0,8	12/9	39	2055				ges.	9,3	0
S.,K.	48 J	♂		12/9	71		2270	485	245	ges.	6,6	11,2
M.,K.	33 J	♂		16/7	415					ges.	3,8	9,7
T.,M.	54 J	♀		11/4	85		1660	440	155	ges.	6,7	4,7
S.,O.	43 J	♂		21/12	113		1960	775	600	ges.	9,8	1,0

Tab. 2 : Klinische, laborchemische und histopathologische Daten sowie Ergebnisse im C_{1q}+ - Deviations- und PEG - Fällungstest (Mittelwerte aus je zwei Einzelbestimmungen) von 9 Patienten mit kryptogener Leberzirrhose. " ges. " = histologisch gesichert; " LAP " = laparoskopisch gesichert

Name	Alter	Geschl	Bil.	SGOT/ SGPT	γ-GT	γGlob.	IgG	IgA	IgM	histologisch	PEG-Fällung in %	C_{1q}+ Deviat. in %
B.,H.	67 J	♂	0,9	18/12	30	1680				LAP	11,9	15,5
P.,H.	54 J	♂	1,7	16/6	60	2655					24,9	17,3
B.,J.	68 J	♂	1,2	28/16	397	2410					16,0	13,7
P.,T.	70 J	♀	0,8	61/52	25	1945				ges.	12,6	7,3
S.,S.	74 J	♀	1,0	19/10	44	1745				ges.	31,8	26,3
G.,K.	68 J	♂	5,1	32/2o	283	2380				ges.	85,6	50,2
S.,J.	62 J	♂		70/49	47		3070	220	140	ges.	9,7	72,3
K.,H.	57 J	♂		13/10	23		2035	353	310	ges.	3,8	8,8
S.,B.	67 J	♂		16/8	19		2615	580	130	LAP	20,7	42,2

Tab. 1o : Klinische, laborchemische und histopathologische Daten sowie Ergebnisse im C_{1q}+ - Deviations- und PEG - Fällungstest (Mittelwerte aus je zwei Einzelbestimmungen) von 13 Patienten mit Fettleber oder Fettleberhepatitis. " ges. " = histologisch gesichert.

Name	Alter	Geschl	Bil.	SGOT/ SGPT	ɣGT	ɣGlob	IgG	IgA	IgM	histologisch	PEG-Fällung in %	C_{1q}+-Deviat. in %
R.,A.	49 J	♂	2,2	26/28	74	1100				ges.	10,5	7,3
S.,A.	36 J	♂		8/5	37	1265				ges.	9,7	12,0
H.,E.	63 J	♀	1,1	14/56	461	880				ges.	4,4	3,7
J.,H.	46 J	♂	1,1	42/29	368	1005				ges.	3,9	0
K.,W.	50 J	♂	0,7	52/46	197	1410				ges.	5,1	0
F.,G.	34 J	♂	0,4	7/20	67	1005				ges.	7,9	2,5
S.,H.	49 J	♂	1,4	80/19	333	1485				ges.	6,4	2,3
M.,E.	58 J	♀		25/24	32		1510	155	115	ges.	3,6	9,9
F.,C.	56 J	♀		11/10	49		550	145	115	ges.	5,6	0
S.,H.	39 J	♂		10/7	14		1375	255	185	ges.	4,1	2,5
L.,H.	49 J	♂		18/41	375		1115	195	185	ges.	2,9	6,5
N.,E.	65 J	♀		23/24	43		2035	205	110	ges.	2,3	34,9
V.,G.	69 J	♀		9/8	36		1375	395	135	ges.	4,6	0

Tabelle 11: Klinische, laborchemische und histopathologische Daten sowie Ergebnisse im C_{1q}+-Deviations- und PEG-Fällungs-Test (Mittelwerte aus je 2 Einzelbestimmungen) von symptomlosen HBs-AG-Trägern (n = 2), Patienten mit Zustand nach HBs-AG-negativer akuter Hepatitis (n = 5), Zustand nach akuter, HBs-AG-positiver Hepatitis (n = 4), primär-biliärer Lebercirrhose (n = 2) und Lebercirrhose bei Hämochromatose (n = 3), "ges." = histologisch gesichert.

Name	Alter	Geschl.	Bilir.	SGOT/SGPT	GT	Glob.	IgG	IgA	IgM	histolog.	PEG-Fällung in %	C_{1q}+-Dev. in %
GT												
P.,K.	36 J	♂	0,6	12/8		730				ges.	4,6	5,5
M.,A.	30 J	♀	0,7	5/5	13	1085				ges.	7,6	3,2
Z.n.aH,HBsAG-neg.												
H.,A.	66 J	♀	0,7	7/6	62	1435				ges.	13,2	8
K.,B.	39 J	♂	0,4	10/10	11	1050				ges.	7,9	5,8
N.,A.	20 J	♀		17/32	172		870	165	195	ges.	3,9	Ø
E.,N.	44 J	♂		8/7	17					ges.	3,5	Ø
P.,T.	55 J	♀		24/26	20					ges.	4,6	7,7
Z.n.aH,HBsAG-pos.												
W.,W.	53 J	♂	0,8	10/8	6	1238				ges.	4,5	8,1
K.,J.	41 J	♀	0,6	9/5	18	835				ges.	7,2	26,6
H.,A.	52 J	♀	0,6	5/5	6	1545				ges.	14,3	30,9
S.,E.	66 J	♀	0,6	5/5	9	1066				ges.	9,1	1,8
PBC												
S.,K.	51 J	♀	3,9	25/17	167	2437				ges.	66,4	48,5
V.,G.	45 J	♀		1o2/64		21o5				ges.	49,6	25,6
L C h. HC												
K.,E.	40 J	♂	1,4	58/26	78	1762				ges.	8,6	6,5
H.,E.	68 J	♂	0,5	48/54	41	1185				ges.	10,3	2,7
J.,P.	52 J	♂	0,5	3o/36	20	1332				ges.	4,3	1,5

Tab. 12 : Gesamtzahl, Zahl und Prozentsatz der signifikant positiven Ergebnisse mit der PEG - Fällungs- und der C_{1q}+ - Deviations - Methode bei Patienten mit akuter, HB_s AG - negativer und HB_s - AG - positiver Hepatitis und mit Zustand nach akuter, HB_s AG - negativer und HB_s AG - positiver Hepatitis sowie bei symptomlosen HB_s AG - Trägern (signifikant positiv = $\Delta \bar{x} - x_n > 2 s_{\bar{x}}$) :

Diagnose	Gesamtzahl der Fälle	PEG- Fällung		C_{1q}+ - Deviation	
		Zahl der sign. positiv. Fälle	% der sign. positiv. Fälle	Zahl der sign. positiv. Fälle	% der sign. positiv.Fälle
akute, HB_s AG-neg. Hepatitis	15	5	33,3 %	0	0
Z. n. akuter, HB_s AG-neg. Hepatitis	5	1	20 %	0	0
akute, HB_sAG-pos. Hepatitis	14	3	21,4 %	1	7,1 %
Z. n. akuter, HB_s AG-pos. Hepatitis	4	1	25 %	2	50 %
Symptomlose HB_s AG - Träger	2	0	0	0	0

Tab. 13 : Gesamtzahl, Zahl und Prozentsatz der signifikant positiven Ergebnisse mit der PEG-Fällungs- und der C_{1q}+ - Deviationsmethode bei Patienten mit chronisch- aggressiver und chronisch - persistierender, HB_s AG - negativer und HB_s AG - positiver Hepatitis
(signifikant positiv = $\Delta \bar{x} - x_n > 2 s_{\bar{x}}$)

Diagnose	Gesamtzahl der Fälle	PEG - Fällung		C_{1q}*- Deviation	
		signifikant pos. Fälle	% der signifikant pos. Fälle	signifikant pos. Fälle	% der signifikant pos.Fälle
chron.-aggres., HB_s AG - neg. Hepatitis	12	1	8,3 %	4	33,3 %
chron.-aggres., HB_s AG - pos. Hepatitis	23 22	10	43,4 %	3	13,6 %
chron.-pers., HB_s AG - neg. Hepatitis	5	1	20 %	1	20 %
chron.-pers., HB_s AG - pos. Hepatitis	3	1	33,3 %	0	0

Tab. 14 : Gesamtzahl, Zahl und Prozentsatz der signifikant positiven Ergebnisse mit der PEG- Fällungs- und der C_{1q}+ - Deviationsmethode bei Patienten mit posthepatitischer, HB_s AG - negativer und HB_s AG - positiver Lebercirrhose, kryptogener Lebercirrhose, alkohol - toxischer Lebercirrhose, Lebercirrhose bei Haemochromatose, Fettleber und Fettleberhepatitis sowie primär- biliärer Cirrhose (signifikant positiv = $\Delta \bar{x} - x_n > 2 s_{\bar{x}}$)

Diagnose	Gesamtzahl der Fälle	PEG - Fällung		C_{1q}+ - Deviation	
		Zahl d. signifikant pos. Fälle	% der signifikant pos. Fälle	Zahl der signifikant pos. Fälle	% der signifikant pos. Fälle
posthepatitische, HB_s AG - neg. Lebercirrhose	17	9	52,9 %	5	29,4 %
posthepatitische, HB_s AG - pos. Lebercirrhose	24	17	70,8 %	13	54,1 %
kryptogene Lebercirrhose	9	6	66,6 %	4	44,4 %
alkoholtoxische Lebercirrhose	21	4	19 %	4	19 %
Lebercirrhose bei Haemochromatose	3	0	0	0	0
Fettleber und Fettleberhepatitis	13	0	0	1	7,6 %
primär biliäre Lebercirrhose	2	2	100 %	2	100 %

Tab. 15 : C_{1q}+ - Deviation durch Serum von 26 Patienten mit verschiedenen Lebererkrankungen vor und nach Behandlung des Serums mit DNase

Name	Alter	Ges	Diagnose	C_{1q}+ - Deviation (in %) vor DNase-Behandl.	nach DNase-Behandl.
P.,H.J.	19	♂	akute, HB_s AG-neg. Hep.	26 %	25 %
P.,K.	49	♂	akute, HB_s AG-neg. Hep.	17 %	18 %
J.,G.	17	♂	akute, HB_s AG-neg. Hep.	17 %	19 %
H.,A.	66	♀	Zstd.n.akt., HB_s AG-neg. Hep.	12 %	16 %
S.,B.	24	♂	akute, HB_s AG-pos. Hep.	19 %	22 %
B.,J.	71	♂	akute, HB_s AG-pos. Hep.	25 %	31 %
W.,W.	53	♂	Zstd. n. akt., HB_s AG-pos.Hep.	11 %	11 %
Z.,E.	71	♀	chron.-aggr., HB_s AG-neg.Hep.	22 %	18 %
S.,A.	63	♀	chron.-aggr., HB_s AG-neg.Hep.	15 %	19 %
K.,E.	48	♀	chron.-aggr., HB_s AG-pos.Hep.	29 %	31 %
H.,J.	77	♂	chron.-aggr., HB_s AG-pos.Hep.	9 %	12 %
C.,H.	59	♂	posthep., HB_s AG-neg. L C	14 %	13 %
S.,H.	54	♂	posthep., HB_s AG-pos. L C	21 %	20 %
E.,G.	63	♂	posthep., HB_s AG-pos. L C	66 %	73 %
B.,H.	67	♂	krypt. L C	17 %	19 %
P.,H.	54	♂	krypt. L C	20 %	26 %
B.,J.	68	♂	krypt. L C	32 %	34 %
P.,T.	70	♀	krypt. L C	15 %	19 %
L.,L.	54	♂	alk.- tox. L C	31 %	36 %
M.,O.	68	♂	alk.- tox. L C	19 %	15 %
K.,E.	40	♂	L C bei Haemochr.	11 %	16 %
H.,E.	68	♂	L C bei Haemochr.	8 %	5 %
S.,K.	51	♀	PBC	47 %	54 %
R.,A.	49	♂	Fettleber	14 %	12 %
S.,A.	36	♂	Fettleberhepatitis	19 %	13 %
H.,E.	63	♀	Fettleberhepatitis	11 %	10 %

Tab. 16 : PEG-Fällung mit Serum von 10 Patienten mit verschiedenen Lebererkrankungen vor und nach Behandlung des Serums mit DNase

Patient	Alter	Geschl.	Diagnose	PEG-Fällung (in %) vor DNase-Behandlg.	nach DNase-Behandlg.
H.,G.	22	♀	akute, HB_s AG - pos. Hepatitis	27,7 %	73,5 %
K.,R.	65	♀	chron.aggr., HB_s AG-pos. Hepatitis	49,3 %	51,2 %
S.,S.	74	♀	post - hepatitische, HB_s AG - neg. L C	46,5 %	52,1 %
A.,H.	77	♀	post - hepatitische, HB_s AG - neg. L C	33,4 %	50,7 %
B.,G.	43	♂	post - hepatitische, HB_s AG - pos. L C	31,6 %	29,1 %
R.,E.	67	♀	post - hepatitische, HB_s AG - pos. L C	26,3 %	25,5 %
G.,H.	68	♂	krypt. L C	84,3 %	16,8 %
M.,O.	68	♂	alkohol- tox. L C	5,2 %	4,5 %
W.,K.	64	♀	alkohol- tox. L C	65,7 %	63,5 %
M.,H.	69	♂	alkohol- tox. L C	31,3 %	9 %

Tab. 17 : Untersuchung von ausgefälltem Sediment auf den Gehalt an IgG, IgM und HB_s AG nach PEG-Fällung von Serum bei 8 Patienten mit akuter, HB_s AG - positiver Hepatitis.

Patient	Alter	Geschl.	PEG-Fällung in %	Sedimentgehalt IgG(mg%)	IgM(mg%)	HB_sAG
H.,A.	40	♀	8,7	21	0	+
H.,G.	22	♀	27,7	12,4	0	++
Z.,M	27	♀	9,7	11	0	+
F.,S.	17	♀	28,4	35	0	+
P.,M.	24	♂	4,8	10	0	+
J.,J.	39	♂	6,8	11,5	0	+
S.,C.	23	♂	6,7	0	0	Ø
B.,G.	63	♀	9,7	11,5	0	+

Tab. 18 : Untersuchung von ausgefälltem Sediment auf den Gehalt an IgG, IgM und HB_s AG nach PEG-Fällung von Serum bei 3 Patienten mit chronisch-persistierender, HB_s AG- pos. Hepatitis.

Patient	Alter	Geschl.	PEG-Fällung in %	Sedimentgehalt IgG(mg%)	IgM(mg%)	HB_sAG
P.,H.	36	♂	7,2	12	0	+
R.,U.	50	♀	19,8	9,2	0	++
M.,W.	68	♂	5,5	0	0	Ø

Tab. 19 : Untersuchung von ausgefälltem Sediment auf den Gehalt an IgG, IgM und HB_s AG nach PEG - Fällung von Serum bei 18 Patienten mit chron.- aggressiver, HB_s AG - positiver Hepatitis.

Patient	Alter	Geschl.	PEG- Fällung (in %)	Sedimentgehalt		
				IgG(mg%)	IgM(mg%)	HB_sAG
H.,W.	60	♂	14,4	12,8	0	Ø
K.,R.	65	♀	64,4	14,6	0	+
P.,W.	60	♀	7,9	13,5	0	+
P.,K.	36	♀	48,1	11,2	0	+
H.,H.	60	♀	16,5	14,5	0	+
K.,H.	38	♂	6,2	15,8	0	++
K.,J.	33	♀	5,8	0	0	Ø
S.,G.	25	♂	4,3	0	0	Ø
S.,H.	64	♂	10,3	10,8	0	Ø
S.,E.	65	♂	4,3	12,4	0	Ø
G.,H.	32	♂	8,0	14,5	0	+
K.,R.	21	♂	6,5	10,4	0	Ø
N.,F.	54	♂	4,9	0	0	Ø
Q.,H.	70	♂	9,8	0	0	+
K.,P.	28	♂	6,9	11,5	0	+
B.,E.	55	♀	52,3	11,5	0	+
S.,K.	42	♀	33,6	12,4	0	+
B.,G.	26	♀	8,9	10,0	0	Ø

Tab. 20 : Untersuchung von ausgefälltem Sediment auf den Gehalt an IgG, IgM und HB_s AG nach PEG - Fällung von Serum bei 20 Patienten mit posthepatitischer, HB_s AG - positiver Lebercirrhose

Patient	Alter	Geschl.	PEG- Fällung in %	Sedimentgehalt IgG(mg%)	IgM(mg%)	HB_sAG
B.,G.	43	♂	85,7	33	4,8	Ø
R.,E.	67	♀	30,4	15	0	+
K.,U.	23	♀	10,8	0	0	Ø
P.,H.	41	♀	83,4	32,2	10,6	+
B.,K.	61	♂	81,4	21,5	2,4	+
A.,M.	63	♀	90,7	74	14,0	+
D.,W.	53	♂	71,2	19	1,8	+
S.,P.	75	♂	25,4	10,6	0	+
F.,E.	37	♀	89,6	77	49,0	Ø
E.,H.	64	♂	62,6	48,0	5,4	+
B.,E.	65	♂	7,6	9,4	0	Ø
S.,E.	40	♂	18,5	10,4	0	+
P.,K.	52	♂	25,0	19,4	0	+
K.,L.	46	♀	26,1	0	0	+
E.,M.	62	♀	7,6	0	0	Ø
S.,A.	62	♂	11,5	0	0	Ø
K.,M.	61	♀	9,0	11,5	0	+
H.,W.	54	♂	20,8	12,6	0	+
H.,H.	47	♂	50,0	40,0	12,5	+
K.,B.	51	♂	12,3	10,4	0	+

Tab. 21 : Endotoxinnachweis mit dem Limulus-polyphemus-Test sowie Mittelwerte der PEG - Fällung und der C_1q + - Deviation mit Serum von 17 Patienten mit verschiedenen Lebererkrankungen

Patient	Alter	Geschl.	Diagnose	Endotoxin im Serum	PEG- Fällung (in %)	C_1q+ - Deviation (in %)
I.,G.	17	♂	akute, HB_sAG-neg. Hepatitis	Ø	31,8	17,4
B.,J.	71	♂	akute, HB_sAG-pos. Hepatitis	Ø	9,9	23,6
H.,G.	22	♀	akute, HB_sAG-pos. Hepatitis	Ø	20,8	22,0
K.,J.	41	♀	Zstd.n. akuter, HB_sAG- pos. Hep.	Ø	7,2	26,6
H.,A.	52	♀	Zstd.n. akuter, HB_sAG- pos. Hep.	Ø	14,3	30,9
Z.,E.	70	♀	chron.-aggr., HB_sAG -neg.Hepatitis	Ø	10,6	22,3
H.,J.	77	♂	chron.-aggr., HB_sAG -pos.Hepatitis	Ø	85,6	22,3
P.,J.	54	♀	posthepatische, HB_sAG- neg. LC	Ø	28,6	19,3
A.,H.	77	♀	posthepatische, HB_sAG- neg. LC	Ø	42,1	43,6
R.,E.	67	♀	posthepatische, HB_sAG- pos. LC	Ø	23,9	18,1
P.,H.	54	♂	krypt. LC	+	24,9	17,3
S.,S.	74	♀	krypt. LC	+	31,8	26,3
G.,K.	68	♂	krypt. LC	Ø	85,6	50,2
L.,L.	54	♂	alkohol.-tox. LC	Ø	31,3	32,8
W.,K.	64	♀	alkohol.-tox. LC	Ø	38,0	28,2
M.,H.	69	♂	alkohol.-tox. LC	Ø	31,3	33,2
S.,K.	51	♀	PBC	Ø	64,4	48,5

Tab. 22 : IgG - Commencement (nach ml Eluat) und monomer/dimer- Verhältnis des IgG bei 10 Patienten mit verschiedenen Lebererkrankungen nach Trennung von 1 ml Serum über Sepharose 6 B - Säule. Rechts zum Vergleich die mittlere C_1q + - Deviation sowie die mittlere PEG-Fällung im nicht fraktionierten Serum der Patienten. Unten das Verhalten von " gepooltem " menschlichem Normalserum

Patienten-nummer	Name	Alter	Geschlecht	Diagnose	IgG - Commencement (nach ml Eluat)	monomer/dimer Verhältnis	C_1q+- Deviation (%)	PEG-Fällung (%)
1	H.,G.	22	♀	akute,HB_sAG- pos. Hep.	342	4,80	22,5	20,8
2	K.,R.	65	♀	chron.-aggr.,HB_sAG-pos.H.	330	4,83	34,7	47,7
3	H.,J.	77	♂	chron.-aggr.,HB_sAG-pos.H.	334	3,75	22,3	85,6
4	P.,K.	36	♀	chron.-aggr.,HB_sAG-pos.H.	346	2,89	32,4	36,9
5	B.,G.	43	♂	posthep,HB_sAG-pos.LC	250	5,49	2,7	66,7
6	R.,E.	67	♀	posthep,HB_sAG-pos.LC	338	5,49	18,1	23,9
7	B.,K.	61	♂	posthep,HB_sAG-pos.LC	338	8,33	55,9	82,7
8	D.,W.	53	♂	posthep,HB_sAG-pos.LC	182	6,57	29,3	50,8
9	S.,P.	75	♂	posthep,HB_sAG-pos.LC	182	3,25	35,6	29,3
10	F.,E.	37	♀	posthep,HB_sAG-pos.LC	182	4,03	47,5	93
"gepooltes"Normalserum					338	5,23		

Tab. 23 : C_1q + - Deviation, PEG-Fällung sowie IgG-, IgM- und HB_sAG - Gehalt der 6 eingeengten Elutionsvolumina " Pool 1 " bis " Pool 6 " (aus den in Abb.8 angegebenen Bereichen) bei 10 (in Tabelle 22 genauer bezeichneten) Patienten

Bestimmung	Pat. Nr.	Pool 1	2	3	4	5	6
C_1q+- Deviation in %	1	1o	12,3	2,9	0	9,1	0
	2	0	0	0	2,5	29	0
	3	5,2	0	0	0	0	0
	4	15,5	2,5	3,4	0	9,6	14,3
	5	24,1	13,2	13,8	15,8	18,9	22,9
	6	6,8	14	0	16,9	15,6	0
	7	29	12,0	15,8	24,4	23,6	entf.
	8	22	15,8	16,9	22	1o,4	3,2
	9	24,4	0	16,1	0	0	0
	10	entf.	entf.	entf.	entf.	entf.	entf.
PEG-Fällung in %	1	15,1	11,3	8,2	14,5	12,4	7,1
	2	4,5	19,4	3,6	9,5	3,3	8,4
	3	16,2	17,1	5,4	5,1	5,6	4,8
	4	13,8	11,5	7,2	11,3	1o,2	1o,1
	5	12	13,2	1o	17,2	22,4	6,3
	6	9,3	1o,9	6,4	9,8	1o,2	1o,2
	7	7,8	4,9	4,6	24,5	4,8	8,8
	8	6,4	5,7	8,1	25,9	6,2	4,1
	9	2o,2	4,7	5,1	6,7	4,9	2,9
	1o	9,5	4,7	24,6	4,9	5,6	33,4
IgG	1	-	-	+	+++	++++	++
	2	-	-	+	+++	++++	++
	3	-	-	+	+++	++++	++
	4	-	-	+	+++	++++	++
	5	-	+	+	+++	++++	++
	6	-	-	+	+++	++++	++
	7	-	-	+	+++	++++	++
	8	+	-	+	+++	++++	++
	9	+	++	++	+++	++++	++
	10	+	+	++	+++	++++	++
IgM	1	+	++	-	-	-	-
	2	-	++	-	-	-	-
	3	+	++	-	-	-	-
	4	+	++	-	-	-	-
	5	-	++	-	-	-	-
	6	-	+	-	-	-	-
	7	-	+	-	-	-	-
	8	-	+	-	-	-	-
	9	-	+	-	-	-	-
	10	+	++	-	-	-	-
HB_sAG	1	+	+	+	-	-	-
	2	+	+	-	-	-	-
	3	+	+	+	-	-	-
	4	+	+	+	+	-	-
	5	+	+	+	-	-	-
	6	+	+	+	+	+	+
	7	+	+	-	-	-	-
	8	+	+	+	+	-	-
	9	+	+	+	-	-	-
	1o	+	+	-	-	-	-

Tab. 24 : Gesamtzahl der signifikant positiven C_{1q}+ - Deviations - und PEG - Fällungswerte in den 6 (in Abb.8 näher bezeichneten) eingeengten Elutionsvolumina " Pool 1 " bis " Pool 6 ", sowie gleichzeitige Übereinstimmung von positiver C_{1q}+ - Deviation und positiver PEG- Fällung mit dem Nachweis von IgG, IgM,und HB_s AG in den einzelnen " Pools " im eluierten Serum von 10 (in Tabelle 22 verzeichneten) Patienten mit Lebererkrankungen

	Gesamtzahl der signifikant positiven Fälle		Zahl der Fälle mit folgenden gemeinsamen pos. Parametern						
	C_{1q}+ - Deviation	PEG - Fällung	C_{1q}+ - Dev. PEG-Fäll. IgG HB_s AG	C_{1q}+-Dev. PEG-Fäll. IgG	C_{1q}+-Dev. IgG	PEG-Fäll. IgG IgM HB_s AG	PEG-Fäll. IgM HB_s AG	PEG-Fäll. IgG HB_s AG	PEG-Fäll. IgG
Pool 1	2	4	1	0	0	0	3	0	0
Pool 2	0	3	0	0	0	1	0	0	0
Pool 3	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Pool 4	1	4	0	1	0	0	0	1	1
Pool 5	1	2	0	0	1	0	0	0	2
Pool 6	0	1	0	0	0	0	0	0	1

Tab. 25 : Klinische, laborchemische Daten und Diagnosen sowie Ergebnisse im C_{1q}+ - Deviations- und PEG - Fällungstest (Mittelwerte aus je zwei Einzelbestimmungen) von 11 Patienten ohne Lebererkrankung

Name	Alter	Geschl.	Bil.	SGOT/ SGPT	γGT	γGlob.	Diagnose	PEG-Fällung in %	C_{1q}+ Dev. in %
M.,A.	70 J	♀	0,4	9/5	14	1045	Herzinfarkt	10	10,5
T.,A.	68 J	♂	0,6	8/5	4	1465	Herzinfarkt	9	9,1
S.,B.	37 J	♀	0,6	5/7	17	1160	Ulcus duodeni	10,8	11,2
B.,D.	18 J	♀	1,1	9/6	9	1015	Anorrh. nervosa	7,5	0
N.,J.	28 J	♀	0,9	15/7	4	890	Hyperventil.Syndrom	6,4	4,7
D.,L.	77 J	♀	0,4	11/15	8	1485	Herzinfarkt	6,6	14,2
S.,A.	77 J	♀	0,6	8/9	7	980	Tachyarrhythmia absoluta	7,9	1,5
E.,J.	20 J	♀	1,0	10/5	18	1445	Zustand nach Meningitis	8,6	2,6
S.,B.	15 J	♂	1,0	8/5	12	1000	Zustand nach Meningitis	10,5	12,1
H.,G.	19 J	♂	0,9	12/5	15	1380	Toxoplasmose	10,4	17
K.,E.	84 J	♀	0,7	8/5	7	870	Herzinfarkt	8,6	11

II. Abbildungen

Abbildung 1:

Mittelwert und Standardabweichung (2 s) der C_{1q}+-Deviation (in %) im Student's t-Test von 16 Patientenkollektiven mit verschiedenen Lebererkrankungen im Vergleich zu einem Kollektiv von 15 gesunden Personen. In Klammern sind jeweils die p-Werte in bezug auf das Kontrollkollektiv angegeben, falls ein signifikanter Unterschied besteht.

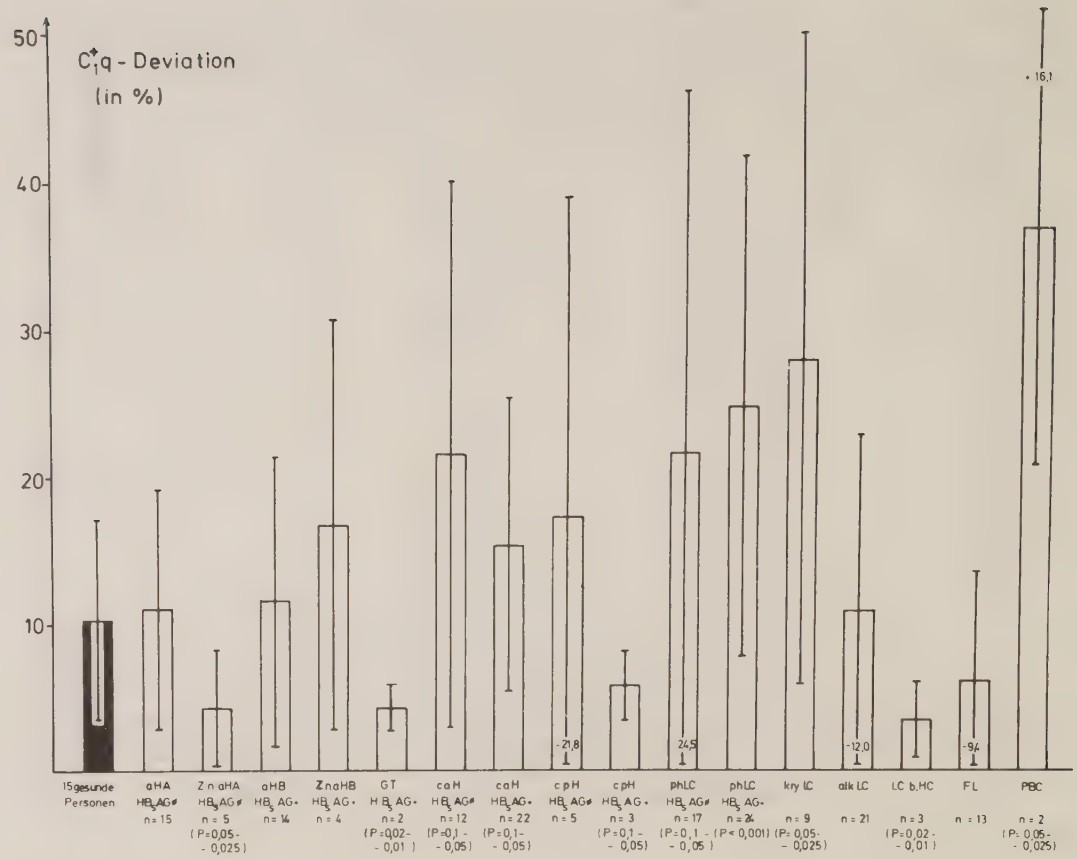


Abbildung 2:

Mittelwert und Standardabweichung (2 s) der C_{1q}^{+}-Deviation (in %) im Student's t-Test von 16 Patientenkollektiven mit verschiedenen Lebererkrankungen im Vergleich zu einem Kollektiv von 11 Patienten ohne Lebererkrankung. In Klammern sind jeweils die p-Werte in bezug auf das Kontrollkollektiv angegeben, falls ein signifikanter Unterschied besteht.

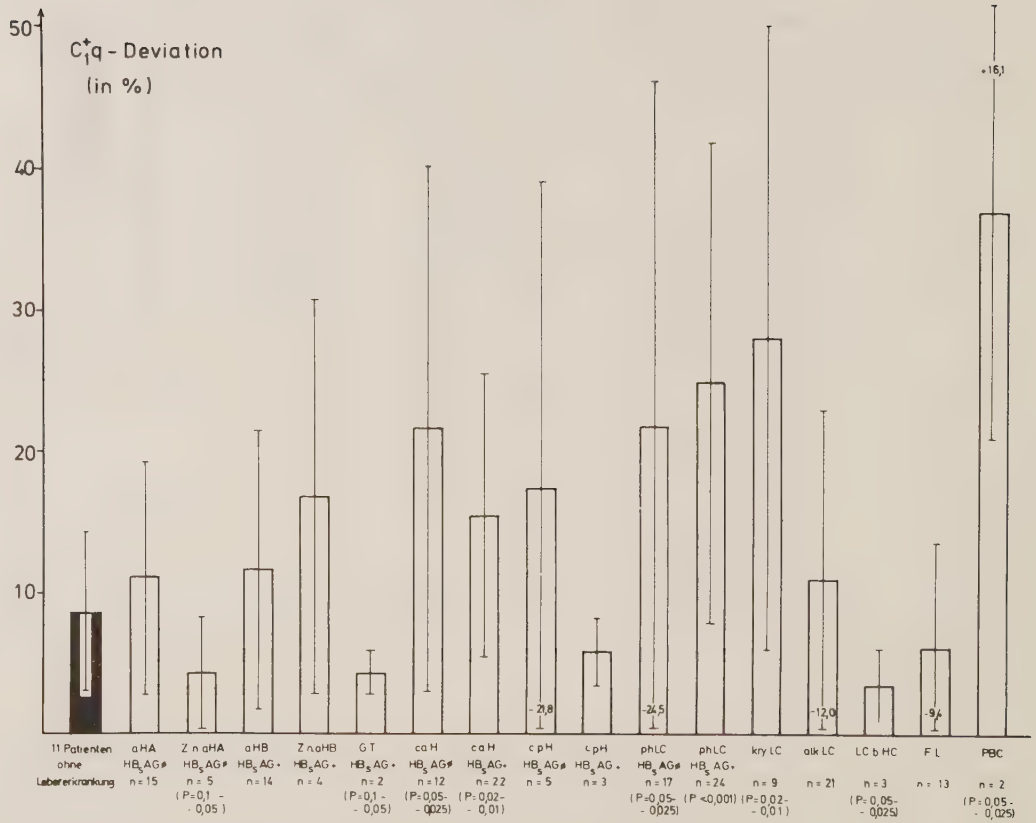


Abbildung 3:

Mittelwert und Standardabweichung (2 s) der PEG-Fällung (in %) im Student's t-Test von 16 Patientenkollektiven mit verschiedenen Lebererkrankungen im Vergleich zu einem Kollektiv von 15 gesunden Personen. In Klammern sind jeweils die p-Werte in bezug auf das Kontrollkollektiv angegeben, falls ein signifikanter Unterschied besteht.

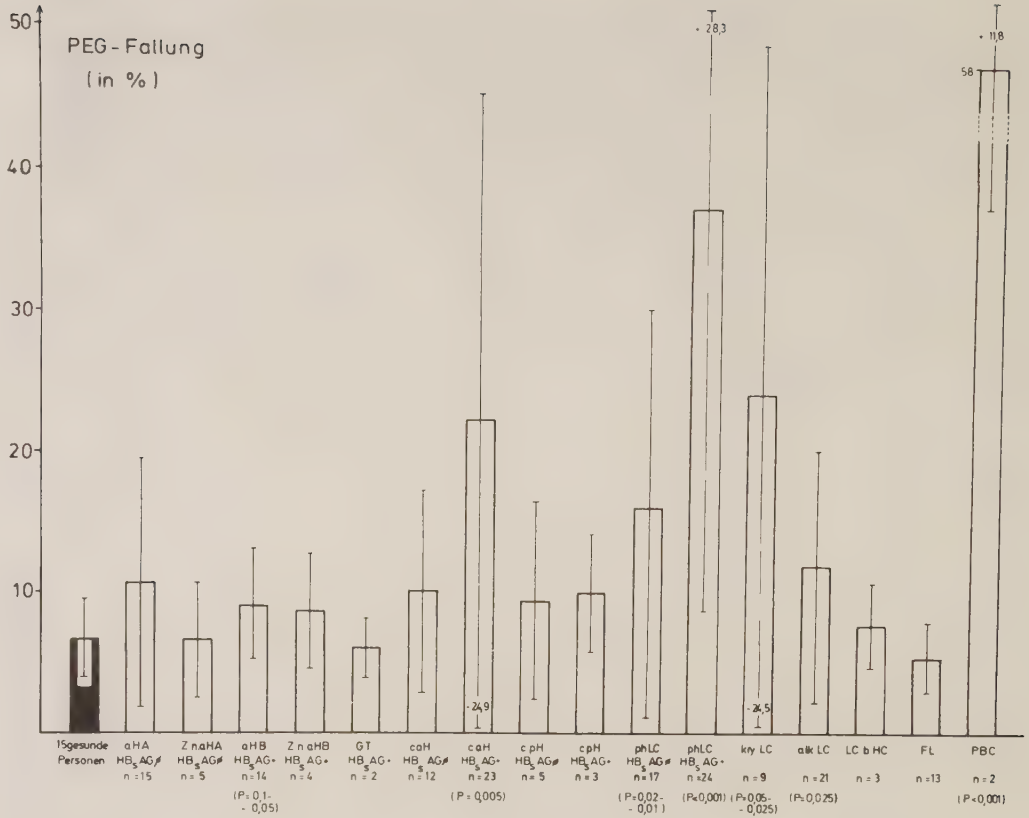
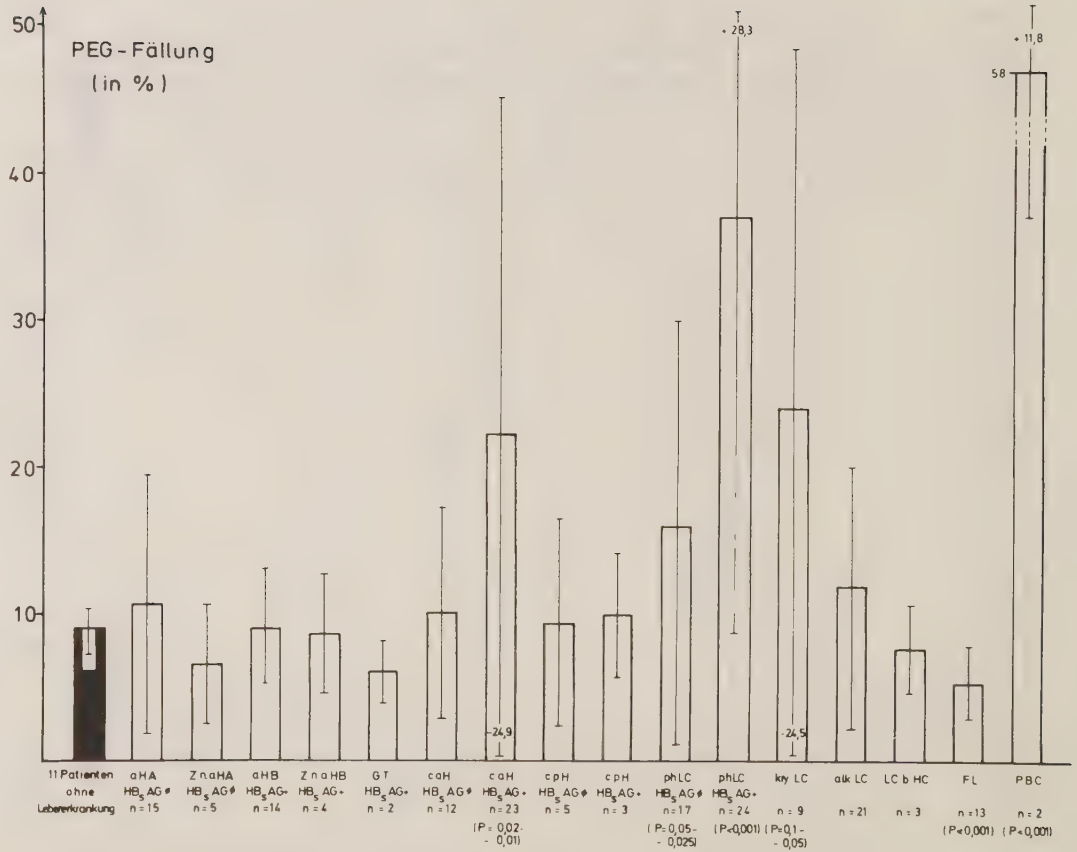


Abbildung 4:

Mittelwert und Standardabweichung (2 s) der PEG-Fällung (in %) im Student's t-Test von 16 Patientenkollektiven mit verschiedenen Lebererkrankungen im Vergleich zu einem Kollektiv von 11 Patienten ohne Lebererkrankung. In Klammern sind jeweils die p-Werte in bezug auf das Kontrollkollektiv angegeben, falls ein signifikanter Unterschied besteht.



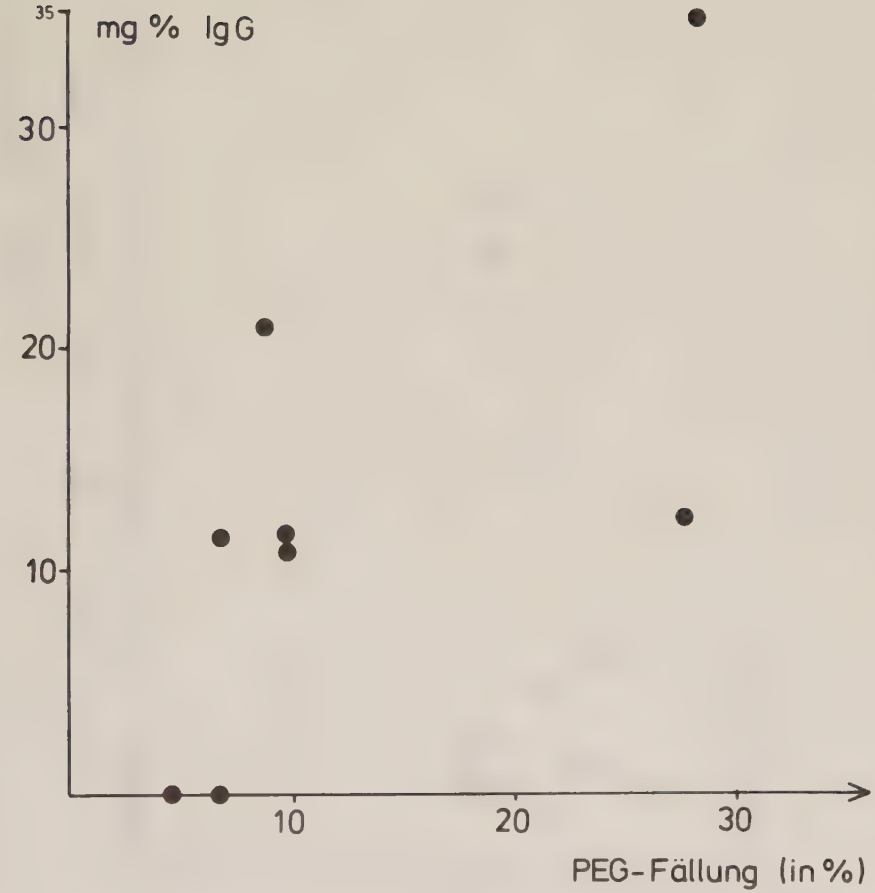
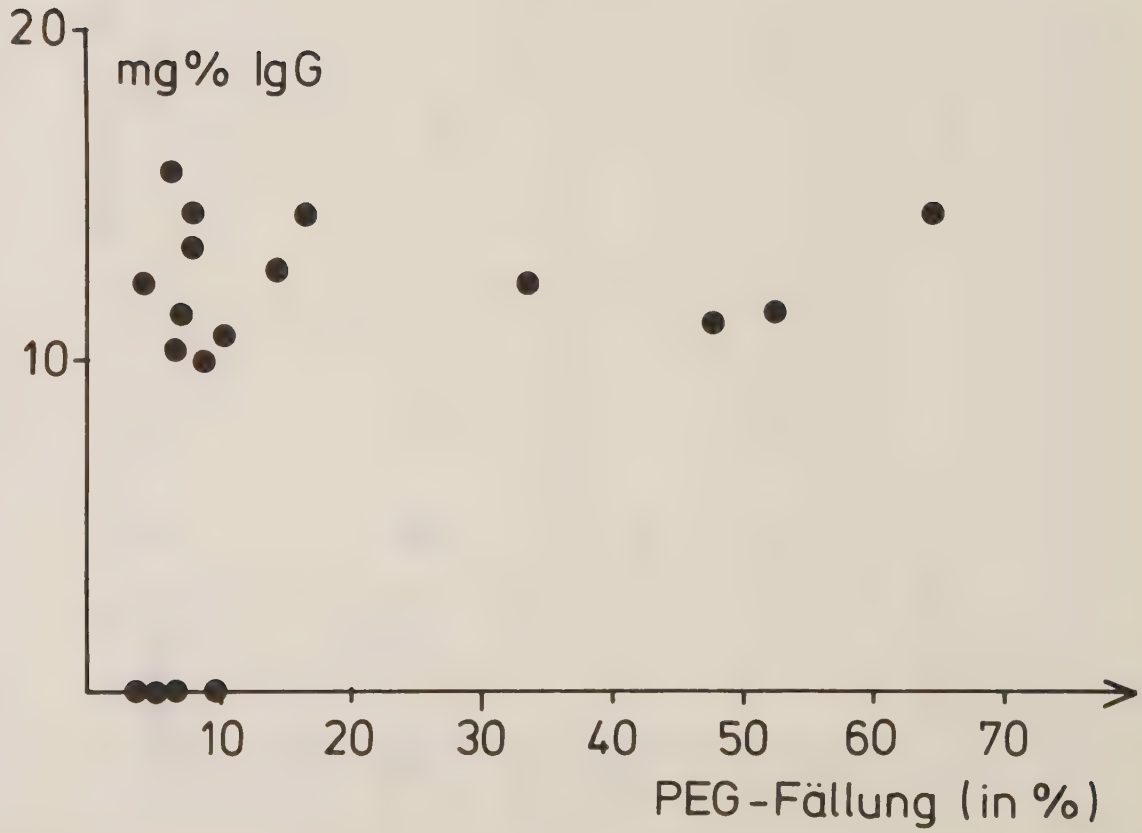


Abbildung 5: Abhängigkeit des IgG-Gehaltes (in mg%) des gefällten Sediments von der PEG-Fällungsrate (in %) im Serum von 8 Patienten mit akuter, HBs-AG-positiver Hepatitis.

Abbildung 6:

Abhängigkeit des IgG-Gehaltes (in mg%) des gefällten Sediments von der PEG-Fällungsrate (in %) im Serum von 18 Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis.



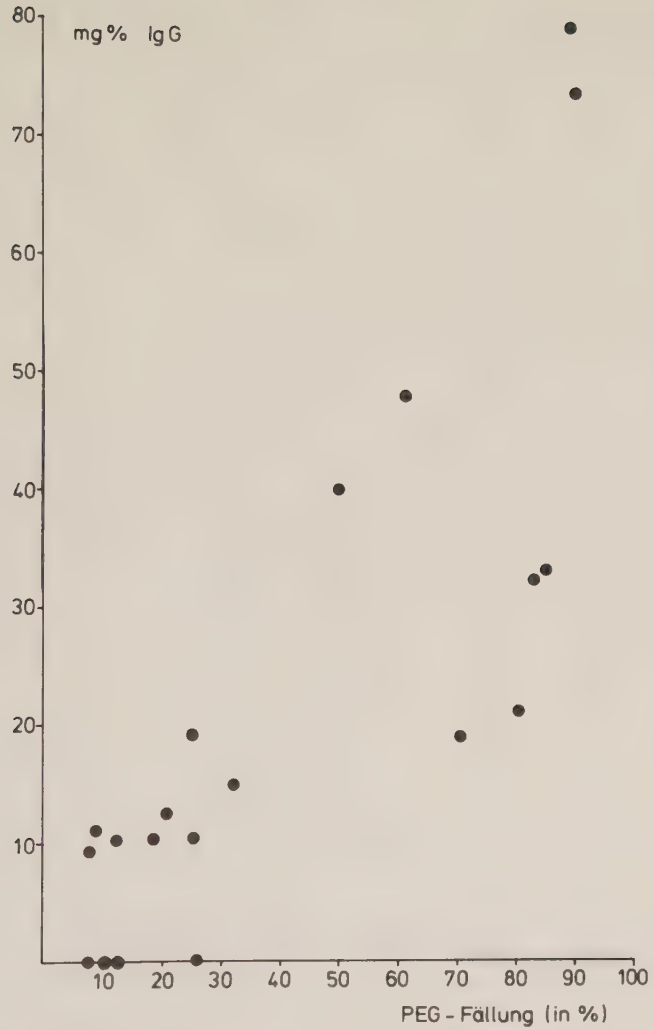


Abbildung 7: Abhängigkeit des IgG-Gehaltes (in mg%) des gefällten Sediments von der PEG-Fällungsrate (in %) im Serum von 20 Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Lebercirrhose.

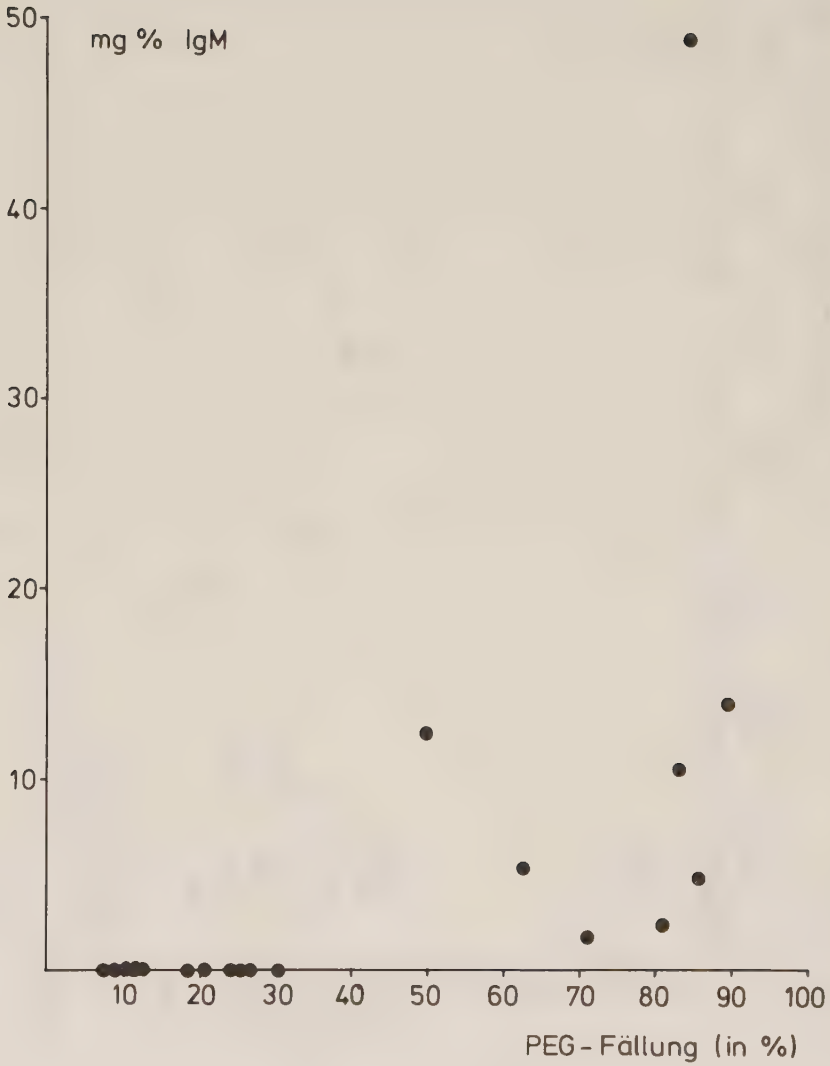


Abbildung 8: Abhängigkeit des IgM-Gehaltes (in mg%) des gefällten Sediments von der PEG-Fällungsrate (in %) im Serum von 20 Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Lebercirrhose.

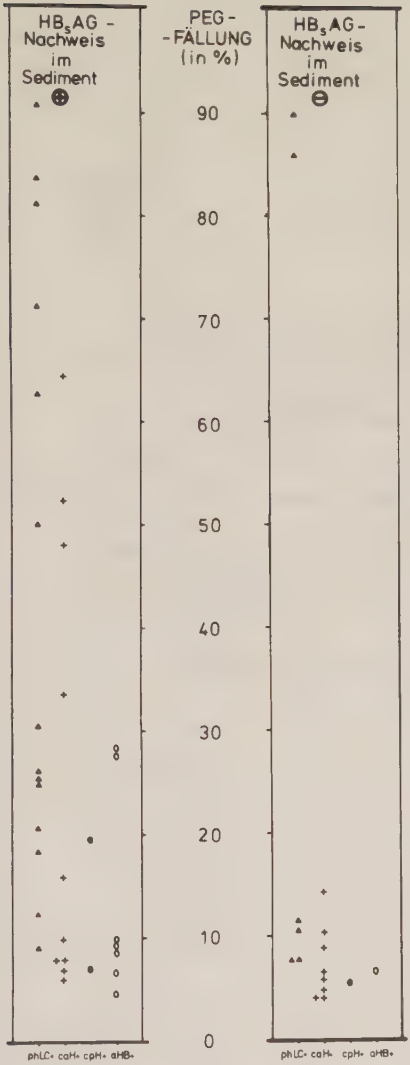


Abbildung 9: Qualitativer HBs-AG-Nachweis im gefällten Sediment in Abhängigkeit von der PEG-Fällungsrate (in %) im Serum von 8 Patienten mit akuter, HBs-AG-positiver Hepatitis (aHB+), 3 Patienten mit chronisch-persistierender, HBs-AG-positiver Hepatitis (cpH+), 18 Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis (caH+) und von 20 Patienten mit posthepatitischer, HBs-AG-positiver Lebercirrhose (phLC+).

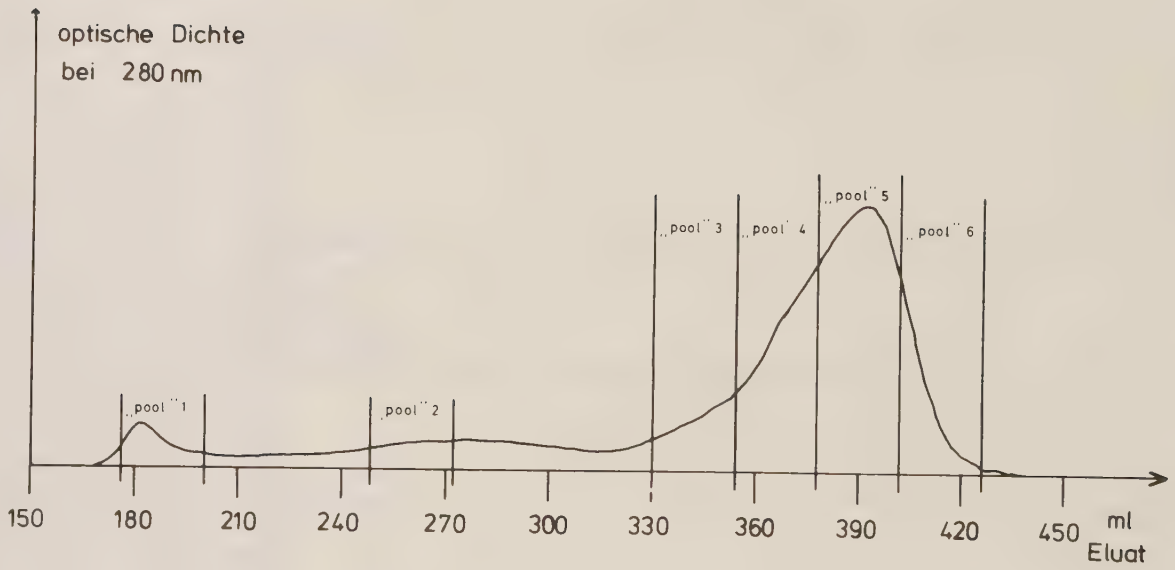
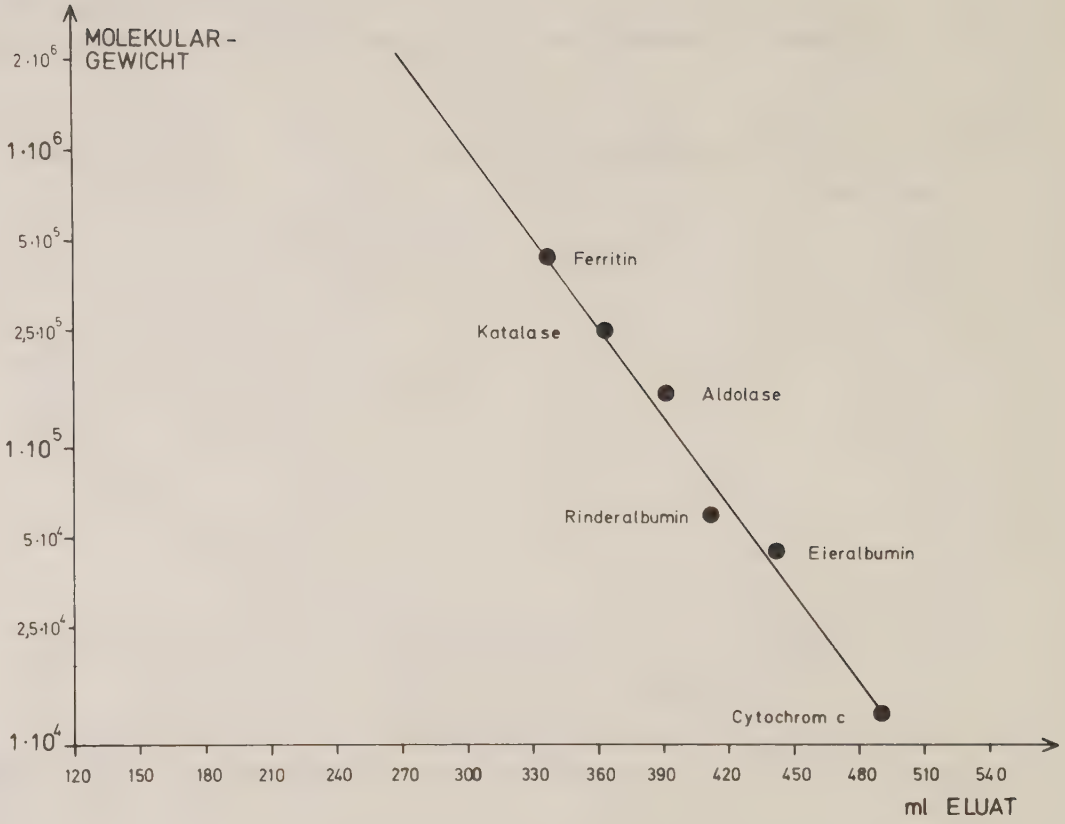


Abbildung 10: Profil der optischen Dichte bei 280 nm von 1 ml Patientenserum nach Trennung über eine Sepharose 6 B-Säule in Abhängigkeit vom Elutionsvolumen (in ml) bei einem Patienten mit chronisch-aggressiver, HBs-AG-positiver Hepatitis (exemplarisch Pat. Nr. 2)."Pool" 1 bis "Pool" 6 bezeichnet die Bereiche, in denen je 6 Fraktionen auf 1 ml Volumen eingeengt wurden. Die Ergebnisse der qualitativen Untersuchung der "Pools" sind in Tabelle 23 aufgeführt.

Abbildung 11:

Eichkurve der Sepharose 6 B-Säule. Auftrennung von 6 gereinigten Eichproteinen (Combithek^{R}, Fa. Boehringer, Mannheim). Ordinate: Molekulargewicht der Proteine; Abszisse: ml Elutionsvolumen bis zur Ankunft der Proteine.



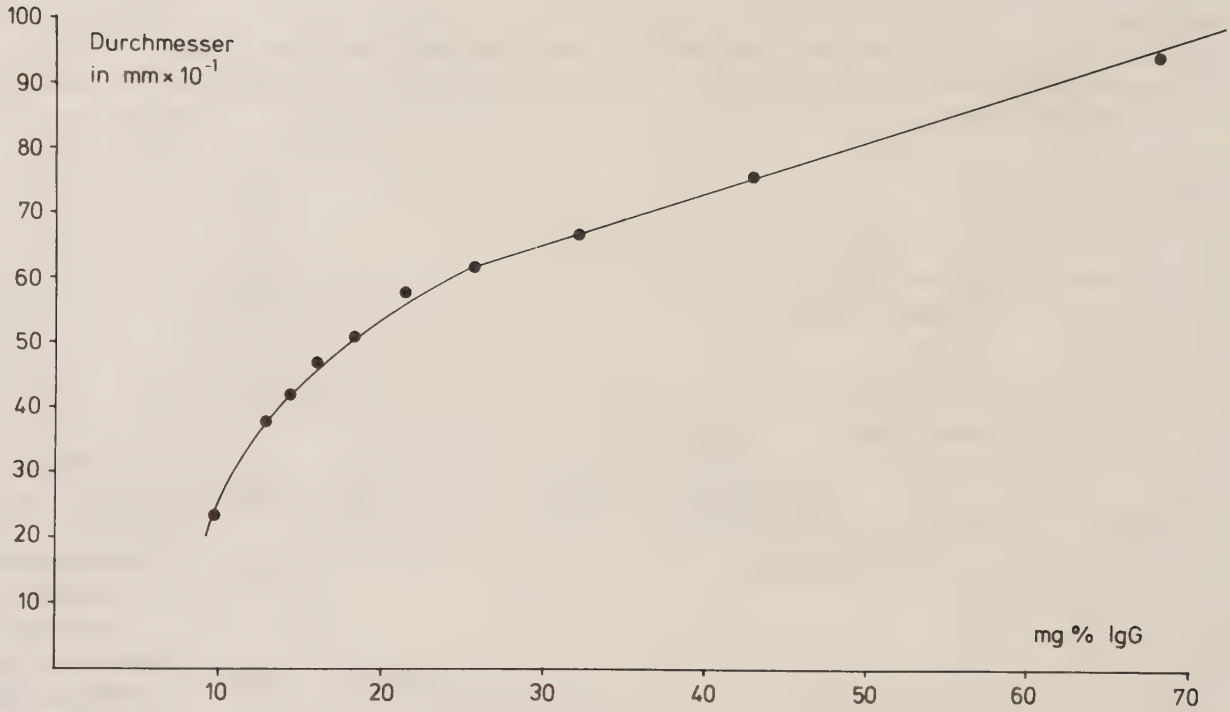


Abbildung 12: Eichkurve für IgG auf Tripartigen®-Platten (Behringwerke AG, Marburg):
Ordinate: Wanderungsdurchmesser in mm;
Abszisse: mg IgG/100 ml

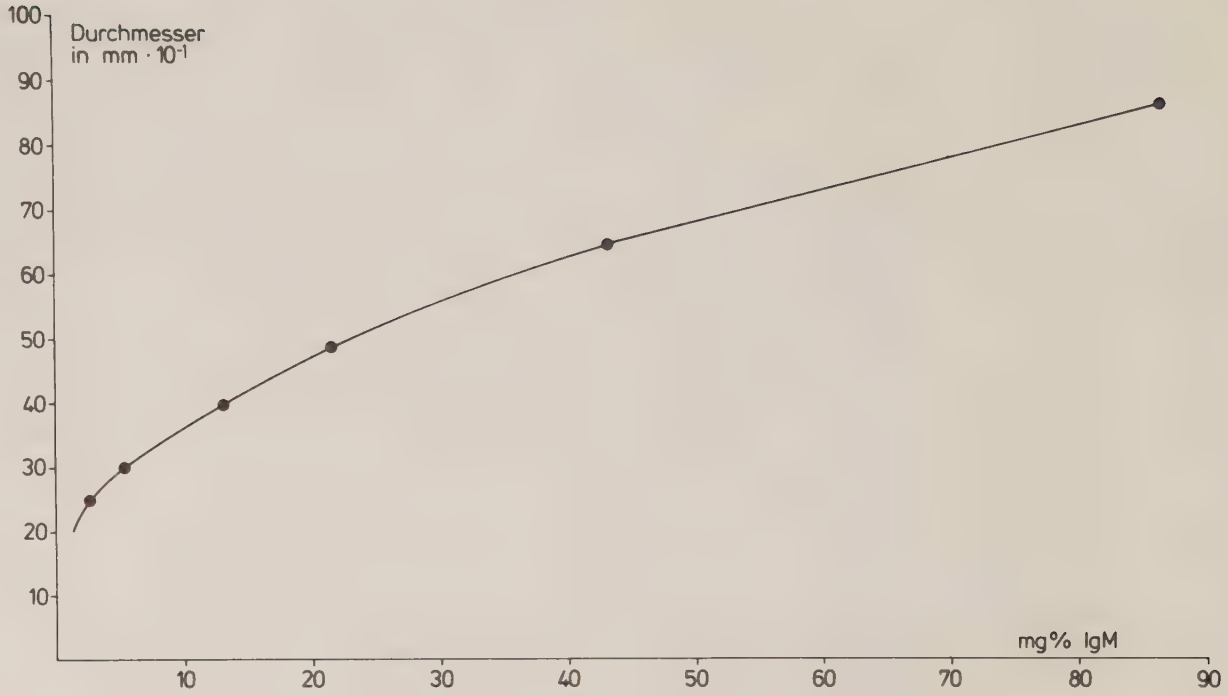


Abbildung 13: Eichkurve für IgM auf Tripartigen®-Platten (Behringwerke AG):
Ordinate: Wanderungsdurchmesser in mm;
Abszisse: mg IgM/100 ml.

Zu herzlichem Dank bin ich Herrn Prof. Dr. med. C.-P. Sodomann für die Überlassung des Themas, seine stets aufgeschlossene Beratung und seine tatkräftige Unterstützung verpflichtet.

Mein besonderer Dank gilt Frau Heidi Schmidt für ihre ständig liebenswürdige, fleißige und geschickte Mithilfe bei der Planung und der Ausführung aller Experimente.

Lebenslauf

Am 29. August 1950 wurde ich als zweiter Sohn des Studiendirektors Silvester Prokein und der Oberlehrerin Therese Prokein, geb. Resch, in Rauenzell/Kr. Feuchtwangen/Bayern, geboren. Nach dem Besuch der Volksschule von 1956 bis 1960 in Rauenzell und Ansbach trat ich in das Platengymnasium Ansbach über und legte dort 1969 die Reifeprüfung ab. Im Wintersemester 1969/70 begann ich, an der Universität Erlangen Medizin zu studieren. Im Anschluß an die naturwissenschaftlich-ärztliche Vorprüfung im Sommer 1970 an der Universität Erlangen wechselte ich an die Universität Zürich. Dort legte ich im April 1972 die ärztliche Vorprüfung ab. Den klinischen Teil des Studiums machte ich an der Universität Würzburg, wo ich im August 1975 mit der ärztlichen Prüfung abschloß. Mein Studium wurde vom April 1970 an von der Studienstiftung des Deutschen Volkes unterstützt.

Am 5. Sept. 1975 heiratete ich die Medizinstudentin Helga Krebs.

Meine Medizinalassistentenzeit leistete ich von November 1975 bis Februar 1976 am Kreiskrankenhaus Schillingsfürst (MFR), von März 1976 bis Juni 1976 an der Medizinischen Universitätsklinik Marburg/Lahn und von August 1976 bis Dezember 1976 an der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg/Lahn ab. Im Januar 1977 erhielt ich meine Approbation als Arzt.

Seit dem 1. Januar 1977 arbeite ich ganztägig an der vorliegenden Arbeit. Dabei werde ich durch ein Promotionsstipendium der Studienstiftung des Deutschen Volkes unterstützt.

Kurt Prokein

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

Bauer, Brodersen, Christiansen, Finkenzeller, Haupt, Hoffmann, Keidel, Matthes
in Erlangen;

Christen, Humbel, Kägi, Kistler, Koller, Kubik, Leuthard, Moll, Rickenbacher, Theiler, Töndury, Wellauer, Wyss
in Zürich;

Altmann, Bannasch, Brandau, Dimmling, Döll, Finger, Franke, Frohmüller, Gerlach, Groß, Gunzer, Henschler, Hertel, Hockerts, Kern, Klaue, Klinge, Kremling, Kühn, Lanz, Leydhecker, Lick, Liehr, Mauerer, Mertens, Metz, Mosler, Müller, A., Müller, E., Naujoks, Phillipu, Polzien, Prott, Reichelt, Richter, Röckl, Romen, Rütt, Sandhage, Sattes, Schimrigk, Schmitt, Schott, Schrapper, Schröder, Schwerd, Seeger, Seeliger, Sperling, Stöcker, Trendelenburg, Viehweger, Viereck, Wecker, Weis, Wulf, Wullstein
in Würzburg.